

FA C U L T É M I X T E
DE MÉDECINE GÉNÉRALE ET COLONIALE ET DE PHARMACIE DE MARSEILLE

N° 2

CONTRIBUTION à l'Etude du Nuoc-Mam

T H È S E

présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Médecine Générale
et Coloniale et de Pharmacie de Marseille

Le 15 Juin 1954

par

TRUONG VAN CHOM

né le 5 Janvier 1923 à PHAN-TIET (Indochine)

Certifié de Chimie Biologique et de Botanique Générale

Diplômé de Sérologie

*Ancien Secrétaire Général de l'Association Corporative des Saumuriens
de BINH-THUAN*

pour obtenir le grade de
DOCTEUR EN PHARMACIE (Diplôme d'Etat)

*

Examineurs de la Thèse :

MM, C. DUMAZERT, professeur. Président.

J. DELPHAUT, professeur. Assesseur.

M. MOURGUE, agrégé, »

C. CREBUS, agrégé, »

AVIGNON — MAISON AUBANEL PÈRE

1954



Digitized by the Internet Archive
in 2026

CONTRIBUTION
à l'Étude du Nuoc-Mam

FACULTÉ MIXTE
DE MÉDECINE GÉNÉRALE ET COLONIALE ET DE PHARMACIE DE MARSEILLE

N° 2

CONTRIBUTION à l'Etude du Nuoc-Mam

THÈSE

présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Médecine Générale
et Coloniale et de Pharmacie de Marseille

Le 15 Juin 1954

par

TRUONG VAN CHOM

né le 5 Janvier 1923 à PHAN-TIET (Indochine)

Certifié de Chimie Biologique et de Botanique Générale

Diplômé de Sérologie

*Ancien Secrétaire Général de l'Association Corporative des Saumuriers
de BINH-THUAN*

pour obtenir le grade de
DOCTEUR EN PHARMACIE (Diplôme d'Etat)

*

Examineurs de la Thèse :

MM, C. DUMAZERT, professeur. Président.

J. DELPHAUT, professeur. Assesseur.

M. MOURGUE, agrégé, »

C. CREBUS, agrégé, »

AVIGNON — MAISON AUBANEL PÈRE

PERSONNEL ENSEIGNANT

DE LA FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE GÉNÉRALE ET COLONIALE
ET DE PHARMACIE DE MARSEILLE

Doyen : G. MORIN.

Assesseur : J. DELPHAUT.

Doyen Honoraire : L. IMBERT.

*Professeurs
Honoraire*

MM. AUBARET, AUDIBERT, BELTRAMI, BREMOND,
GABRIEL, GAUJOUX, HECKENROTH, JOYEUX,
OLMER, RIMATTEI, ROCHE, ROGER.

Chargé de Cours Honoraire : M. TIAN.

Secrétaire : J. COMTE.

Bibliothécaire : Mlle PERRIN.

Professeurs

<i>Anatomie</i>	GRISOLI.
<i>Anatomie Pathologique</i>	GASTAUT.
<i>Bactériologie et Pathologie Générale</i>	BRAHIC.
<i>Botanique et Cryptogamie</i>	PELLISSIER.
<i>Chimie Analytique et Hydrologie</i>	ARNOUX.
<i>Chimie Médicale</i>	DERRIEN.
<i>Chimie</i>	DUMAZERT.
<i>Clinique Chirurgicale</i>	FIOLLE.
<i>Clinique Chirurgicale</i>	MOIROUD.
<i>Clinique Chirurgicale Infantile et Orthopédique</i>	SALMON.
<i>Clinique Chirurgicale Thérapeutique et Chirurgie Expéri- mentale</i>	DE VERNEJOUL.
<i>Clinique Dermato-syphiligraphique</i>	CHARPY.
<i>Clinique Exotique</i>	BLANC.
<i>Clinique des Maladies du Système Nerveux</i>	POURSINES.
<i>Clinique Médicale</i>	MATTEI.
<i>Clinique Médicale</i>	POINSO.
<i>Clinique Médicale Thérapeutique</i>	J. OLMER.
<i>Clinique des Maladies des Voies Digestives et de la Nu- trition</i>	MONGES.
<i>Clinique Médicale Infantile</i>	GIRAUD.
<i>Clinique Neuro-Chirurgicale</i>	PAILLAS.
<i>Clinique Obstétricale et Gynécologique</i>	CHOSSON.
<i>Clinique Ophtalmologique</i>	JAYLE.
<i>Clinique Urologique</i>	CHAUVIN.
<i>Histologie</i>	N...
<i>Hygiène et Médecine Préventive</i>	SAUTET.
<i>Matière Médicale</i>	BALANSARD.
<i>Médecine Légale et Médecine du Travail</i>	MOSINGER.
<i>Parasitologie</i>	N...
<i>Pathologie Chirurgicale</i>	CARCASSONNE.
<i>Pharmacologie</i>	F. MERCIER.
<i>Pharmacie Chimique et Toxicologie</i>	VIGNOLI.
<i>Pharmacie Galénique</i>	DELPHAUT.
<i>Physiologie</i>	MORIN.
<i>Physique Médicale</i>	DUBOULOZ.
<i>Thérapeutique</i>	PIERI.
<i>Professeur sans chaire</i>	ROUX.



Agrégés libres

MM. AUDIER.
BERTHIER.
DOR.

MM. FIGARELLA.
IMBERT.
RECORDIER.

Agrégés en exercice

MM. APPAIX.
BERNARD.
CREMIEUX.
GRANJON.
HENRY.
JOUVE.
LAMY.
LAVAL.
LENA.

MM. MARONNEAUD.
MONGES Henri.
OLLIVIER.
OURGAUD.
PAOLI.
RAYBAUD.
SERMENT.
VAGUE.

Maîtres de Conférences-Agrégés

MM. BOURRET.
DONNET.
GREBUS.
J. MERCIER.

MM. MOURGUE.
PICARD.
RANQUE.

Chargés des Fonctions de Maîtres de Conférence

<i>Anatomie Pathologique</i>	MM. PAYAN.
<i>Botanique et Cryptogamie</i>	BERNARD.
<i>Histologie.</i>	STAHL.

Chargé des fonctions d'Agrégé

Clinique Urologique M. CHAUVIN.

A MES PARENTS,

*Leur vie a été pour moi une constante leçon
de droiture et de bonté,*

*Qu'ils trouvent ici l'expression de ma pro-
fonde reconnaissance.*

A MON MAITRE,

Monsieur le Professeur Christian DUMAZERT,

Qui m'a fait l'honneur de m'accueillir dans son laboratoire. Grâce à lui, j'ai pu mener à bien cette étude.

Qu'il trouve ici, avec mon admiration pour son vaste savoir, l'expression de ma reconnaissance et de mon respectueux et dévoué attachement.

A Monsieur le Professeur DELPHAUT,

Auprès de qui j'ai trouvé l'accueil le plus aimable.

Qu'il veuille croire en ma sincère et respectueuse gratitude pour la bienveillance avec laquelle il m'a accueilli pendant quelques mois dans son laboratoire.

A mon Jury de thèse,

Avec toute ma respectueuse reconnaissance.

A mes Professeurs de Pharmacie,

En remerciement de leurs précieux enseignements.

A Monsieur J. GREGOIRE, Docteur en Science,

*Qui m'a souvent donné des conseils;
Qu'il trouve, ici l'expression de ma reconnaissance.*

A mes Camarades du Laboratoire de Chimie,

Pour l'amitié qu'il m'ont témoignée à chaque instant, et en particulier à Monsieur Georges GARRIGUE, en remerciement de son aimable sympathie.

INTRODUCTION

Le NUOC-MAM que certains auteurs ont confondu avec le PRAHOC cambodgien et le PADEC laotien, qui sont plutôt des pâtes fermentées, est d'après la définition légale (Arrêté du Gouvernement Général de l'Indochine du 21-12-1916), le résultat de la macération du poisson dans une solution concentrée de sel marin. C'est essentiellement une dissolution de substances protidiques à un certain degré de désintégration.

Il est utilisé comme condiment par les différents peuples d'Indochine et principalement par le peuple Vietnamien. Il entre dans tous les repas des Vietnamiens, utilisé soit en nature, soit additionné à d'autres condiments, soit pour corser les mets.

Il est encore plus qu'un condiment : c'est un aliment. Certains pauvres ne se contentent dans leurs repas, en dehors du riz habituel, riche en glucides, que du Nuoc-Mam qui leur apporte les acides aminés qui leur sont indispensables.

L'industrie de Nuoc-Mam ne cesse de se développer. Au début elle s'est cantonnée dans quelques villes côtières de la mer de Chine : CAT HAI (Nord Vietnam), VINH, NAM-O, PHANRI, PHAN-THIET, MUI-NE (Centre Vietnam), PHUOC-HAI, PHU-QUOC (Sud Vietnam).

Avant la guerre de 1939, la production s'élevait à plus de 70.000.000 de litres de Nuoc-Mam par an. Voici la production des grands centres saumuriers (1).

1925	BINH-THUAN	41.000.000 litres.
1935	QUANG-YEN	20.000.000 »
	PHU-QUOC	6.000.000 »
	NGHE-AN	3.000.000 »
	BA-LANG	2.000.000 »
	NAM-O	1.000.000 »
1942	Nuoc-Mam d'eau douce	5.000.000 »
		78.000.000 litres.

Actuellement la production des différents centres côtiers a fortement baissé par suite de la pénurie des moyens de transport. Par contre, cette industrie prend un grand essor dans d'autres régions, à LONG-XUYEN, CANTHO, MYTHO (Sud Vietnam), à PHNOM-PENH, KANTAL (Cambodge) où l'on s'adresse pour la fabrication du Nuoc-Mam aux poissons d'eau douce.

Etant donné l'importance économique du produit, sa valeur nutritive et l'importance de la population qui en consomme, l'étude du Nuoc-Mam est utile pour les peuples d'Indochine.

Le peuple Indochinois, en particulier, l'industrie du Nuoc-Mam en Indochine, doit une reconnaissance aux chercheurs français qui font une étude désintéressée de leur produit condiment et aliment préféré, et parmi lesquels j'ai le plaisir de citer les noms : ROSE, GUILLERM, MESNARD, COUSIN, NOYER, AUTRET, VIALARD-GOUDOU, auxquels j'ajoute mon maître, Monsieur le Professeur C. DUMAZERT, sans lequel je n'aurais pu mener à bien ce travail.

Dans l'exposé de notre thèse nous poursuivrons deux buts : d'une part la réunion de données relatives à la préparation du Nuoc-Mam, depuis la pêche des poissons jusqu'aux procédés industriels et d'autre part, celles relatives à son étude analytique et biochimique.

Nous avons inclus dans la plupart de ces chapitres les recherches personnelles que nous avons effectuées et qui portent essentiellement sur les points suivants :

- a) Etude des modifications chimiques qui se produisent au cours de la protéolyse observée grâce à un essai de préparation de Nuoc-Mam réalisé à l'échelle semi-industrielle.
- b) Etude de la composition de différents échantillons de Nuoc-Mam y compris celui que nous avons préparé nous-même.

Ce faisant, nous avons contrôlé les méthodes bromatologiques préconisées officiellement pour le contrôle de la qualité des produits commerciaux. Nous avons parfois mis en œuvre des techniques dont les résultats nous ont paru de nature à apporter des données complémentaires dignes d'intérêt.

La composition en acides aminés a surtout retenu notre attention, en raison de l'importance de ces corps dans l'alimentation particulière des peuples de l'Extrême-Orient.

Les Grandes Pêches en Indochine

La Pêche du Canuc.

La pêche commence vers le mois d'Avril et se termine en Octobre et Novembre. Les jonques utilisées pour la pêche du Canuc sont assez solides. Les dimensions sont de 12 mètres de longueur sur 3 de largeur.

Le filet est constitué par une vaste poche d'environ 50 mètres de long avec une ouverture de 25 à 30 mètres de large et de 20 mètres à 25 mètres de haut. La ralingue supérieure de l'ouverture est d'abord garnie de liège de façon à rester flottante à la surface de l'eau. La ralingue inférieure au contraire est munie de plombs qui la maintiennent au fond. Dans la région de BINH-THUAN, les deux côtés de l'ouverture du filet sont garnis de tronçons de bambous qui facilitent le flottage à la surface. Enfin, le fond du filet est attaché par une petite corde à un gros flotteur en liège ou en bambou. Le pêcheur se sert de cette corde pour surveiller les poissons au fond du filet.

Au début de la saison de pêche, les Vietnamiens vont couler par des fonds d'environ six brasses, des bambous âgés, garnis sur toute leur hauteur de fascines très fournies constituées par des feuilles de palmiers (cocotiers). Les bambous ainsi que leurs fascines sont maintenus verticalement dans l'eau par des paniers remplis de grosses pierres. Peu de temps après que ces fascines ont été posées, les poissons, spécialement les Canuc, y trouvant un abri, viennent s'y loger. Tous les matins les pêcheurs se rendent sur ce lieu de pêche ainsi préparé.

Le filet est disposé de façon qu'il soit submergé dans l'eau, maintenu au fond par de grosses pierres, elles-mêmes sont reliées par des cordes à un ou deux sampans amarrés à une petite distance des fascines. L'un des pêcheurs se jette à l'eau et se place à cheval sur un gros bambou qui porte lui-même un câble garni de fascines et maintenu à peu près verticalement par un flotteur. Ce pêcheur s'approche à la nage et tout doucement vient se placer à côté des bambous ou du câble de fascines fixes.

Au moment où le câble mobile à fascines passe très lentement auprès des fascines fixes, les poissons qui y sont logés les abandonnent peu à peu pour passer assez rapidement dans les fascines du câble mobile. Tout doucement, le pêcheur se dirige vers l'ouverture du filet, entraînant avec lui le câble avec des fascines et les poissons.

A ce moment, des sampans on tire lentement sur les câbles qui sont attachés aux pierres fixées à la ralingue inférieure de l'ouverture de l'engin. On remonte ainsi la ralingue inférieure à la surface et les poissons se trouvent pris. On resserre doucement l'ouverture de l'engin et tous les poissons restent prisonniers.

Dans la province de BINH-THUAN, on n'utilise pas de câbles à fascines mobiles. Le filet est maintenu submergé dans l'eau grâce à des cordes fixées à des ancrs. On amène le filet à côté des bambous à fascines. Lorsque le filet se trouve juste au-dessous de la nappe de poissons, on amène le filet à la surface par un jeu spécial qui libère le filet des cordes fixées aux ancrs du sampan. Les poissons se trouvent ainsi emprisonnés dans le filet.

La Pêche du Camoi.

La saison de pêche commence vers le mois de Juillet et se termine au mois de Mars. D'ordinaire, on utilise deux jonques légères pour la pêche du Camoi. Le filet est identique à celui utilisé pour la pêche au Canuc, mais de mailles assez larges. En mer, un des pêcheurs reste toujours sur le sommet du mât pour guetter les poissons. Lorsqu'un banc de Camoi est signalé, on lance le filet de l'une des jonques. On passe ensuite une corde appelée GIAY DOI à l'autre jonque. Le filet tendu, les deux jonques se dirigent vers le banc de Camoi. Lorsque ceux-ci s'approchent de l'ouverture du filet, des deux jonques on fait beaucoup de bruit de façon à chasser les poissons dans la bouche de l'engin. On relève ensuite le filet.

La Pêche du Cacom.

La pêche du Cacom est identique à celle du Camoi. Le filet utilisé pour la pêche est aussi identique à celui utilisé pour les Camoi, mais de mailles très serrées.

Autres Pêches.

On fait aussi en Indochine et particulièrement dans la province de BINH-THUAN, la pêche au chalut et la pêche à la senne. Les poissons capturés au cours de ces pêches sont très variés.



Une Saumurerie à Phantiet.



La préparation des jarres.

Fabrication du Nuoc-Mam

A. — Fabrication.

La fabrication du Nuoc-Mam exige l'emploi d'un certain matériel :

- a) Cuves moyennes (diamètre 1,50 m. à 2 m.; hauteur : 2 m. à 2,20 m.) utilisées pour la salaison et la mise en macération du poisson.
- b) Petites cuves rondes ou ovales utilisées pour le soutirage du Nuoc-Mam.
- c) Cuves réservoirs dont la capacité varie entre 5.000 et 100.000 litres.
- d) Des accessoires tels que rateaux, feuilles de palmiers, claies de bambous, paniers à sel, à poissons, etc...

Les poissons utilisés pour la fabrication du Nuoc-Mam sont :

— Dans la province de BINH-THUAN :

- Canuc : *Decapterus Russelli* ou *Caran Kurra* (Carangidés).
- Camoi : *Dorosema Nasus* et *Dorosoma chacurda* (Clupéidés).
- Calam : *Spratelloides delicatulus* (Dussumierinés).
- Calep : *Setipina melanochir* et certains engraulis.
- Cacom : *Stolephorus commersoni* (Engraulidés).
- Ca Tap : poissons de diverses espèces.

— A PHU-QUOC et à NAM-O :

Divers stoléphorus.

— Dans certaines provinces de Cochinchine et du Cambodge :

Ca Linh : *cirrhinus julliéni*.

La préparation nécessite un grand nombre d'opérations.

1^o PREPARATION DE LA CUVE.

Les cuves utilisées pour la salaison et la mise en macération du poisson doivent d'abord être bien lavées et nettoyées.

Avant la mise en cuve des poissons, on procède à l'élaboration d'un filtre autour des orifices d'écoulement. Pour cela, on dispose à l'intérieur de la cuve, au niveau des orifices d'écoulement, successivement en allant des parois à l'intérieur de la cuve :

- une sorte de balai à tiges rigides,
- des cailloux ou des débris de jarres cassées,
- des balles de paddy.

L'ensemble constitue, avec du poisson qu'on mettra par la suite, une sorte de filtre qui arrête tous les corps en suspension dans l'eau salée et qui, si on recueille à petit jet, ne laissera couler que du liquide parfaitement limpide.

2^o SALAGE.

Dans les petits centres de fabrication tels que Nam-O et encore dans certaines fabriques de Nuoc-Mam à Binh-Thuan, le salage se fait en mélangeant du poisson et du sel à raison d'une partie de sel pour 2,5 à 3 parties de poissons. Le salage se fait soit à la main, soit à l'aide d'un râteau ou d'un bâton, sur des planches placées à la partie supérieure de la cuve.

Quand le mélange est homogène, on le fait tomber dans la cuve qu'on remplit en formant, au-dessus du bord supérieur, un tas conique de poissons et de sel. Il est à noter que certaines petites fabriques de Nuoc-Mam mélangent du riz grillé au mélange de sel et de poissons. Dans les grandes installations saumurières, on utilise encore ce procédé de salage qui demande beaucoup de temps, et qui offre des garanties d'homogénéité dans la préparation de différents Mam : Mam-Com, Mam-Nuc, Mam-Moi.

Quant à la fabrication du Nuoc-Mam, on préfère répartir uniformément et alternativement dans la cuve, une couche de sel et de poissons (toujours suivant les mêmes proportions indiquées) ou mélanger simplement à l'aide d'un bâton ou d'un râteau chaque addition de poissons et de sel dans la cuve.

3^o RECOLTE DU NUOC-BOI (première eau salée).

On laisse en contact les poissons et le sel pendant une période de 24 à 48 heures au cours de laquelle, par suite

des phénomènes d'osmose, le sel enlève l'eau de constitution du poisson et s'y dissout. On débouche les robinets et on retire en grand jet la solution saline de couleur brun-rougeâtre.

4^o MISE EN MACERATION.

Le tas conique de poissons et de sel s'est affaissé lors de l'écoulement de l'eau salée. Celle-ci étant complètement soutirée, on dispose au-dessus du poisson salé, des feuilles de cocotiers, des claies de bambous qu'on tresse assez régulièrement et au-dessus, pour les retenir et éviter le gonflement des poissons, soit des cales, soit de gros blocs de pierre.

On ferme les robinets inférieurs et on remet dans la cuve du Nuoc-Boi soutiré lors de la précédente opération jusqu'à ce qu'il en affleure le bord supérieur. Le reste du Nuoc-Boi est mis dans de grandes jarres exposées au soleil.

5^o OBTENTION DU NUOC-NHUT.

Après une période de macération qui dure de 4 mois à 1 an, suivant les poissons de différentes saisons et suivant les saumuriers, on recueille à petit jet, par les robinets inférieurs du Nuoc-Mam limpide riche en azote qu'on utilise pour les coupages.

On remet dans la cuve du Nuoc-Boi exposé au soleil. Après une période de macération qui dure de 10 à 15 jours, on retire le nouveau jus riche en azote et utilisé aux mêmes fins que le Nuoc-Nhut.

6^o PREPARATION DU NUOC-MAM COMMERCIAL.

Dans les grandes installations saumurières, on groupe les cuves en « QUE », c'est-à-dire « série »; chaque « QUE » ou « série » comprend un nombre de cuves moyennes allant de 10 à 20 et comprenant :

- des cuves de poissons salés,
- 3 ou très fréquemment 4 cuves de lessivage « NUOC-LONG » désignées ainsi :

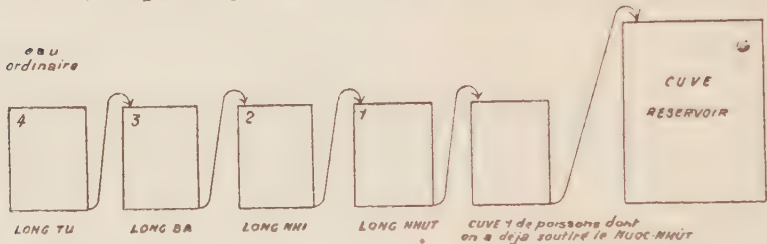
La première cuve de lessivage est appelée LONG-NHUT, la deuxième LONG-NHI, la troisième LONG-BA, et la quatrième LONG-TU.

On met de l'eau de mer (actuellement interdit par les Douanes Françaises en Indochine) ou de l'eau ordinaire dans la cuve n^o 4.

Cette opération sert à récupérer le sel et l'azote pouvant encore exister dans la cuve. L'eau de soutirage de la cuve n° 4 est déversée dans la cuve n° 2, celle de la cuve n° 3 est déversée dans la cuve n° 2 dont l'eau soutirée est mise dans la cuve n° 1. L'eau de soutirage de la dernière cuve est de nouveau remise dans la cuve de poissons n° 1 dont on a déjà extrait le Nuoc-Nhut. L'eau sortant de la cuve de poissons n° 1 constitue du Nuoc-Mam commercial.

On répète cette opération de soutirage 4 à 5 fois. Le Nuoc-Mam obtenu doit contenir du sel en quantité telle qu'il indique empiriquement au moins 20 degrés à l'aéromètre Baumé.

On ajoute de temps à autre du sel au-dessus de la cuve de lessivage n° 1. Les différents Nuoc-Mam obtenus pour chaque « QUE » ou série sont déversés dans un réservoir unique de grande capacité ou dans des réservoirs correspondant à chaque « QUE ».



La quantité de Nuoc-Mam commercial retirée jugée suffisante, on procède à l'extraction du Nuoc-Mam de la cuve de poissons suivante n° 2, la cuve n° 1 servant de LONG-NHUT, la cuve de lessivage n° 1, le LONG-NHUT de tout à l'heure devenant le LONG-NHI et ainsi de suite.

Le LONG-TU (cuve de lessivage n° 4) du début n'est plus utilisé. Il contient des débris de poissons qui constituent un engrais azoté recherché.

Pour un nouveau saumurier venant d'installer une fabrique de Nuoc-Mam, qui n'a pas les différentes cuves de lessivage, on procède comme suit :

Après avoir soutiré le Nuoc-Nhut, on met dans la cuve n° 1 de l'eau salée titrée 20 degrés à l'aéromètre qu'on enrichit en azote en soutirant à petit jet et en le remettant dans la cuve plusieurs fois.

Après avoir retiré une quantité suffisante de Nuoc-Mam commercial par cette méthode, à partir de l'eau salée, on procède à l'extraction du Nuoc-Mam de la cuve suivante n° 2, la première cuve servant maintenant de Long-Nhut.

Cette fois-ci, l'eau salée n'est pas mise directement dans la cuve n° 2, mais dans la cuve n° 1. Le liquide de soutirage de cette dernière contient une certaine quantité d'azote et de sel. On le remet dans la cuve n° 2 dont on recueille le liquide qui s'écoule en bas et qui constitue le Nuoc-Mam.

La quantité de Nuoc-Mam retirée ici pour chaque cuve est inférieure à celle obtenue dans les vieilles saumureries possédant les différentes cuves de lessivage.

La quantité de Nuoc-Mam soutirée jugée suffisante, on procède à l'extraction du Nuoc-Mam de la cuve n° 3, la cuve n° 2 servant de Long-Nhut, la cuve n° 1 de Long-Nhi.

On soutire ainsi par cette méthode jusqu'à ce que l'on ait opéré une série complète de 4 cuves de lessivage.

Le Nuoc-Mam obtenu est vendu tel quel ou additionné d'une quantité de sucre caramélisé purifié la plupart du temps par les industriels au blanc d'œuf.

B. — Préparation familiale.

Certaines familles du Sud Vietnam fabriquent elles-mêmes du Nuoc-Mam pour les besoins de la famille.

Elles utilisent des poissons éviscérés qu'elles mélangent avec du sel. Lorsque le bouquet de Nuoc-Mam est constaté, elles ajoutent du jus d'ananas qui, par des ferments protéolytiques, liquéfie les protéines du poisson.

Préparation du Nuoc-Mam en A. O. F. par les Etablissements du Cap-Vert.

(Tiaroye Sénégal)

La notice ci-dessous nous a été communiquée par Monsieur E. POSTEL, directeur de la section technique des pêches maritimes de l'Inspection Générale de l'Elevage et des Industries animales en A.O.F.

INSTALLATIONS.

Batterie de 12 cuves en bois d'une contenance de 500 litres chacune et ayant la forme de barrique. Position verticale. Robinet d'écoulement en bas sous abris.

POISSONS UTILISES.

Yaboys (*Sardinella éba et aurita*),

Anchois (*Engraulis sp*),

Petits chinchards (*Decapterus ronchus* et *Selar crumenophthalmus*).

En mélange, les meilleurs sont dans l'ordre : les anchois, les sardinelles, les chinchards.

MODE OPERATOIRE.

Mélange poissons et sels — 1 kg de sel pour 3 kgs de poissons.

MISE EN FUTS.

Au bout de 3 jours, ouverture du robinet inférieur et écoulement goutte à goutte d'une saumure assez salée. Fil-

tration sur tamis de gaze ou de toile très fine. On recueille le filtrat dans un seau d'une vingtaine de litres (durée de remplissage : une heure). Lorsque le seau est plein, on le vide dans la cuve et on recommence sans cesse l'opération.

Pendant la nuit, le seau est remplacé par une cuve.

Ce soutirage continu dure 3 mois. Au bout de 3 mois, fermeture complète de la cuve. Attente 6 mois. A ce moment, ouverture du robinet inférieur : le jus qui s'écoule est du Nuoc-Mam. Il est filtré puis mis en bouteille pour la vente.

Récupération de l'azote du Nuoc-Mam putride par les procédés empiriques

Il arrive que le Nuoc-Mam qu'on a obtenu, par suite du manque d'azote ou de chlorure de sodium, est abîmé au bout d'un certain temps (on dit qu'on a du Nuoc-Mam tourné). On récupère l'azote par différents procédés.

PROCEDE DE CUISSON.

Ce procédé est utilisé par les petits commerçants et consommateurs. On chauffe du Nuoc-Mam tourné pendant un certain temps qui varie suivant le degré de putréfaction. Ce chauffage a pour but de tuer les germes néfastes et de chasser le gaz ammoniac existant toujours en grandes quantités dans le Nuoc-Mam putride.

PROCEDE A LA CHAUX.

Ce procédé est utilisé par les saumuriers. On agite de la chaux éteinte dans le Nuoc-Mam tourné, exposé au soleil. L'ammoniac en partie chassée par la chaux s'évapore. Une autre partie s'unit avec le Cl_2Ca en formant un complexe $\text{Cl}_2\text{Ca} \cdot 4 \text{NH}_3$.

Après une période d'exposition au soleil qui varie de 5 à 15 jours, on recueille le liquide limpide qui sent beaucoup la chaux et on le verse dans une cuve de poissons non extraite. En soutirant le liquide par le bas et en le remettant par le haut de la cuve, on recueille après plusieurs jours d'opération un Nuoc-Mam riche en azote qui sent très peu la chaux.

PROCEDE DE LESSIVAGE.

On fait passer du Nuoc-Mam putride successivement dans la série des 4 cuves de lessivage et on obtient enfin un Nuoc-Mam limpide brun rougeâtre. Ce Nuoc-Mam est débarrassé d'une grande quantité de microbes de putréfaction et des produits humiques par absorption à travers les différentes couches de poissons et de sel, mais contient une quantité appréciable d'ammoniaque.

Influence du milieu sur l'activité des agents de la formation du Nuoc-Mam.

La formation du Nuoc-Mam s'explique par l'action des diastases des organes digestifs (2) et des bactéries anaérobies (3) sur les protéines des muscles de poissons. Ce sont les bactéries anaérobies stricts qui donnent au Nuoc-Mam le bouquet particulier. D'après les travaux de ROSE, l'activité des enzymes est variable suivant 3 facteurs :

- la température,
- le pH,
- le taux du sel.

1. — LA TEMPERATURE.

La température optimum d'action se situe entre 36° et 44°. Dans les installations saumurières du Sud-Vietnam, où la température est presque uniforme pendant toute l'année, les cuves sont mises sous abri. Dans le Nord (VINH, DONG-HOI) où le froid a une action néfaste sur l'activité fermentaire, les cuves sont exposées le jour au soleil et ne sont couvertes que la nuit et quand le ciel est couvert.

2. — LE pH.

ROSE, en faisant des expériences sur de la gélatine, montre que l'action des ferments digestifs diminue quand le milieu est acide et augmente dans le cas contraire.

Dans la pratique, à BINH-THUAN et autres centres de production, on ne fait pas attention à la notion du pH.

3. — LE TAUX DU SEL.

ROSE montre que la protéolyse augmente quand la concentration en sel diminue. Dans une eau salée à 21 p. 100,

l'activité des ferments n'est que le tiers de cette activité dans un liquide pratiquement non salé. Cependant, la diminution du taux de chlorure de sodium au-dessous d'une certaine limite favorise l'envahissement des poissons par des colonies bactériennes. Aussi, dans la pratique, utilise-t-on une dose convenable qui est d'une partie de sel pour 2,5 à 3 parties de poissons.

Méthodes permettant l'obtention rapide du Nuoc-Mam

A la suite des études précédentes, nous croyons utile d'ajouter la description des méthodes qui ont été proposées pour l'obtention rapide du Nuoc-Mam :

A. — *Méthodes permettant la protéolyse rapide.*

— On a déjà pensé à hacher les poissons. Actuellement, certaines saumureries du BINH-THUAN ont fabriqué du Nuoc-Mam-Nhi avec des poissons hachés. Ce hachage permettant le contact intime des enzymes protéolytiques du tube digestif avec les protéines des poissons, accélère la protéolyse. Cependant, le Nuoc-Mam obtenu par ce procédé ne présente pas le bouquet particulier des Nuoc-Mam fabriqués selon le procédé classique, car les microbes responsables de ce bouquet particulier ne peuvent plus survivre dans ce hachis de poisson.

— D'autres ont broyé les poissons dans de grands mortiers avant de les mettre dans les cuves. Ce broyage permettant le contact des enzymes avec une surface plus étendue des protéines de poissons, accélère la protéolyse, mais moins rapidement que le hachage.

Cependant, ce procédé est préférable au premier, car les microbes anaérobies que GUILLERM a trouvés dans la chair de poissons continue à vivre dans ce milieu de poissons légèrement et hâtivement broyés, et vont élaborer des produits responsables du bouquet du Nuoc-Mam.

B. — *Méthode permettant l'obtention rapide du bouquet du Nuoc-Mam.*

On mélange avant de mettre en macération dans les cuves les poissons déjà fermentés (c'est-à-dire où le bouquet du Nuoc-Mam a déjà été constaté — dans l'espace de 4 ou

5 mois —) avec les poissons frais à raison d'une partie de ces poissons fermentés avec 5 parties de poissons frais.

Les microbes utiles anaérobies présents dans la chair des poissons fermentés trouvent dans les poissons frais nouvellement introduits un milieu de culture favorable à leur développement et ils prolifèrent rapidement. La durée de fermentation se raccourcit ainsi. Le bouquet de Nuoc-Mam est ainsi vite constaté. Nous avons déjà essayé ce procédé de fabrication du Nuoc-Mam et nous avons vu que le bouquet du Nuoc-Mam pourrait être constaté après deux mois de mise en macération dans les cuves.

C. — *Méthodes permettant à la fois la protéolyse rapide et l'obtention rapide du bouquet du Nuoc-Mam.*

a) On prépare d'abord une solution salée riche en azote sans bouquet du Nuoc-Mam en laissant macérer dans les cuves de poissons hachés.

On lui donne ensuite le bouquet particulier en faisant passer cette solution salée sur des cuves de poissons salés, déjà fermentés où le bouquet du Nuoc-Mam a déjà été constaté.

b) A la méthode précédente, nous préférons celle utilisant des poissons légèrement broyés ou pressés.

Les poissons broyés ou pressés déjà fermentés seront laissés à macérer avec les poissons frais. Le Nuoc-Mam obtenu par ce dernier procédé présente un bouquet très apprécié.

Méthodes officielles d'analyse publiées d'après le décret du 26 avril 1933.

1° EXAMEN PREALABLE.

ODEUR SUI GENERIS.

Elle donne des indications utiles sur la nature du Nuoc-Mam ou sur celle des altérations ou des fraudes qu'il a pu subir.

EXAMEN MICROSCOPIQUE.

Après avoir noté l'aspect du Nuoc-Mam, sa couleur, son état de limpidité, l'aspect de dépôt s'il y en a un, on examine au microscope le Nuoc-Mam et le dépôt obtenu par centrifugation ou après 12 heures de repos. On note en particulier la présence de divers éléments microbiens.

2° ANALYSE CHIMIQUE

DENSITE A 15°.

Prendre au moyen d'un densimètre pour liquides plus lourds que l'eau la densité du Nuoc-Mam à deux températures différentes ; calculer la réduction à opérer pour exprimer la densité à + 15°.

EXTRAIT SEC A 100°.

Dans une capsule cylindrique de verre à fond plat mesurant 70 mm. de diamètre sur 25 mm. de hauteur ou dans une capsule de platine de même forme et de mêmes dimensions, on verse 10 cm³ de Nuoc-Mam filtré, exactement mesurés au moyen d'une pipette jaugée. On place la

capsule sur un bain-marie porté à l'ébullition et on l'y maintient pendant trois heures consécutives, puis dans une étuve à 100° pendant deux heures. On laisse alors refroidir dans un exsiccateur et on pèse.

CENDRES.

Calciner au rouge sombre le produit de l'évaporation au bain-marie de 10 cm³ de Nuoc-Mam filtré, dans une capsule de platine à fond plat de 70 mm. de diamètre sur 25 mm. de hauteur.

Les déterminations suivantes se font sur du Nuoc-Mam dilué au 1/20^e.

PREPARATION DE LA SOLUTION AU 1/20^e.

Verser dans un ballon jaugé de 200 cm³, 10 cm³ de Nuoc-Mam filtré, exactement mesurés au moyen d'une pipette jaugée, ajouter de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge du ballon; mélanger pour avoir une dilution parfaite.

ACIDITE DE TITRATION A LA PHENOL PHTALEINE.

Verser dans un erlenmayer 50 cm³ de Nuoc-Mam dilué au 1/20^e exactement mesurés, ajouter 4 gouttes de solution alcoolique de phénol-phtaléine à 3 p. 100 dans l'alcool à 90°. Titrer au moyen d'une solution de soude 0,1 N.

Soit N le nombre de cm³ de solution 0,1 N de soude employé :

$N \times 1,96$ exprime en acide sulfurique l'acidité à la phénol-phtaléine d'un litre de Nuoc-Mam.

AZOTE TOTAL (Méthode de Kjeldahl).

Verser dans un ballon en verre pyrex de 7 à 800 cm³ de capacité, 10 cm³ de dilution de Nuoc-Mam au 1/20^e avec environ 15 cm³ d'acide sulfurique et 1 globule de mercure. On chauffe de façon à provoquer l'apparition de fumées blanches, on continue à chauffer jusqu'à l'obtention d'un liquide qui doit être incolore après refroidissement. Ajouter alors environ 250 cm³ d'eau distillée, en lavant l'ampoule de verre et le col du ballon; projeter environ 2 grammes d'hypophosphite de soude et chauffer légèrement jusqu'à rassemblement du mercure en un précipité gris.

Ce résultat obtenu, additionner de 5 à 6 gouttes de solution de phénol-phtaléine à 3 p. 100 de quelques grains de pierre ponce, puis, en refroidissant le ballon sous l'eau courante, ajouter 80 cm³ de lessive de soude à 36° Baumé. Le liquide doit prendre une coloration rouge. Adapter rapidement le ballon en verre au réfrigérant ascendant d'un appareil d'Aubin ou Delattre.

Chauffer et recueillir le liquide distillé dans un récipient de 250 cm³ contenant 20 cm³ de solution N/10 d'acide sulfurique et 2 cm³ de teinture de cochenille.

Titre l'excès d'acide avec une solution 0,1 N de soude.

Soit N le nombre de cm³ de solution 0,1 N employés pour le virage au violet de la teinture de cochenille (20-N) 2,8 exprime en grammes la quantité d'azote total contenu dans un litre de Nuoc-Mam.

AZOTE AMMONIACAL.

Introduire 50 cm³ de dilution de Nuoc-Mam au 1/20^e dans un ballon de 600 à 800 cm³ en verre blanc (ou mieux Pyrex) avec 100 cm³ d'eau distillée, quelques grains de pierre ponce et une pincée de magnésie calcinée. Distiller aussitôt à l'appareil d'Aubin ou Delattre les deux tiers du liquide et recevoir le produit de la distillation dans un récipient de 200 cm³ contenant, comme pour la détermination de l'azote total, 20 cm³ de solution 0,1 N d'acide sulfurique et 2 cm³ de teinture de cochenille.

Soit N le nombre de cm³ de solution de soude nécessaires pour obtenir le virage au violet de la teinture de cochenille (20-N) 0,56 exprime en grammes la quantité d'azote ammoniacal contenu dans un litre de Nuoc-Mam.

AZOTE ORGANIQUE.

Il est égal à la différence de l'azote total et de l'azote ammoniacal.

AZOTE TITRABLE AU FORMOL.

La détermination s'effectue par la méthode Sørensen modifiée par Effront.

Cette méthode exige les réactifs suivants :

- une solution de phénol-phtaléine dans l'alcool à 50 p. 100,
- du papier de tournesol très sensible,

- une solution de formol qui doit être préparée au moment de s'en servir de la façon suivante : à 50 cm³ de formol commercial on ajoute 1 cm³ de la solution de phénol-phtaléine, et goutte à goutte, la quantité de soude 0,1 N strictement nécessaire pour obtenir une légère teinte rosée.
- une solution saturée de baryte dans l'alcool méthylique.

Marche de l'analyse.

On verse 50 cm³ de dilution de Nuoc-Mam au 1/20^e dans un ballon jaugé de 100 cm³, puis on introduit 1 cm³ de solution de phénol-phtaléine dans l'alcool à 50°, 2 grammes de chlorure de baryum, de la solution de baryte goutte à goutte jusqu'à coloration rouge, puis un excès égal à 5 cm³. On amène le contenu du ballon à 100 cm³, on agite vigoureusement et on laisse un quart d'heure au repos. On filtre s'il y a lieu, et sur 25 cm³ de cette solution filtrée, on procède à un premier dosage.

Ces 25 cm³ de solution alcaline et colorée en rouge sont placés dans un erlenmeyer et additionnés d'acide chlorhydrique 0,1 N jusqu'à neutralisation exacte au papier de tournesol très sensible.

On ajoute alors 10 cm³ de solution de formol. la liqueur devient acide, on agite, puis on titre avec la solution 0,1 N de soude jusqu'à obtention d'une coloration rouge faible.

Soit N le nombre de cm³ de soude 0,1 N nécessaires, N x 2,24 exprime la quantité en grammes d'azote titrable au formol contenu dans un litre de Nuoc-Mam.

On répète cette opération sur une nouvelle prise d'essai de 25 cm³ de liqueur colorée et l'on prend la moyenne des résultats obtenus.

Pour obtenir des résultats satisfaisants, il importe tout d'abord d'employer une quantité de substance telle qu'on soit conduit à utiliser environ 5 cm³ de soude 0.1 N. Ainsi, pour certains Nuoc-Mam de qualité très inférieure ou fraudés, on pourra être amené à doubler la prise d'essai initiale.

AZOTE DES ACIDES AMINES.

On obtient l'azote des acides aminés en retranchant de de l'azote titrable au formol l'azote ammoniacal.

CHLORURES (Méthode CHARPENTIER-VOLHARD).

Dans un erlenmeyer de 250 cm³, verser 10 cm³ de dilution de Nuoc-Mam au 1/20^e, 30 cm³ de solution 0,1 N

de nitrate d'argent, 5 cm³ de solution saturée d'alun de fer ammoniacal, 5 cm³ d'acide azotique pur, et 100 cm³ d'eau distillée, ajouter à l'aide d'une burette une solution de 0,1 N de sulfocyanate de potassium, correspondant à la solution précédente.

Soit N le nombre de cm³ de solution de sulfocyanate employés (30-N) x 11,7 représente en grammes la quantité de chlorure exprimée en chlorure de sodium (ClNa) contenu dans un litre de Nuoc-Mam.

REPARTITION DE LA MATIERE AZOTEE.

On l'indique en déterminant par le calcul les proportions d'azote organique, d'azote ammoniacal et d'azote aminé contenues dans le Nuoc-Mam analysé relativement à 100 parties d'azote total.

Réglementation du Nuoc-Mam.

Ici, je ne mentionne que l'arrêté récent du 17 novembre 1943 du Gouvernement Général de l'Indochine.

Article 1^{er}

En Indochine, il est interdit de fabriquer, d'exposer, de mettre en vente ou de vendre sous la dénomination du Nuoc-Mam ou du Nuoc-Nhut, ou des termes synonymes, tout produit autre que celui obtenu par les usages courants et loyaux de la technique saumurière traditionnelle annamite.

La dénomination du Nuoc-Nhut est réservée aux premiers jus de cuves, dont la fraction liquide est exclusivement constituée par l'eau de constitution du poisson.

La dénomination du Nuoc-Mam désigne les produits obtenus par la dilution du Nuoc-Nhut, ou par l'épuisement des cuves à l'eau salée. Ces produits doivent répondre aux conditions exigées par les articles suivants.

Article 2.

Les Nuoc-Nhut et Nuoc-Nhi constitués par la dissolution de la chair de poisson à un certain degré de désintégration sont des solutions limpides sans dépôt appréciable, d'odeur et de saveur sui-généris suffisamment salées pour ne présenter aucun indice de putréfaction.

Article 3.

Les qualités substantielles du Nuoc-Nhut et du Nuoc-Mam dépendent :

- de leur richesse en poisson;
- du degré de désintégration de la chair du poisson,
- de leur valeur alimentaire.

La richesse en poisson est donnée par la teneur en azote total exprimée en grammes par litre.

Le degré de désintégration de la chair du poisson s'exprime par la teneur en azote formol qui doit être comprise entre 50 et 70 pour 100 de l'azote total.

La valeur alimentaire ou teneur en principes utiles exige que le taux d'azote ammoniacal ne dépasse pas la moitié de l'azote formol. Le Nuoc-Nhut et le Nuoc-Mam fabriqués et mis en vente devront répondre aux caractéristiques suivants :

— *Pour le Nuoc-Nhut*

Azote total	18 grammes par litre au moins
Azote-formol	50 à 77 p. 100 de l'azote total
Azote-ammoniacal	50 p. 100 au plus de l'azote-formol.

— *Pour le Nuoc-Mam*

Azote total	15 grammes par litre au moins
Azote-formol	50 à 77 p. 100 d'azote total
Azote-ammoniacal	50 p. 100 au plus de l'azote-formol.

Article 4.

Est autorisé : l'addition du sucre caramélisé ou non, mélasse, miel, thính ou riz grillé dans les cuves de préparation.

Article 5.

Sont interdits et considérés comme manœuvres illicites :

- a) — la mise en cuve de poissons en mauvais état de conservation,
- b) — l'enrichissement des eaux de lessivage ou des Nuoc-Nhut et Nuoc-Mam par toute matière azotée autre que celle provenant des cuves, l'usage des eaux de lessivages ammoniacales ou putrides,
- c) — l'usage des antiseptiques, des produits chimiques, des matières colorantes.

Hétérolyse des Poissons.

Le Nuoc-Mam est le résultat de l'action combinée des ferments digestifs et de certains microbes anaérobies, sur des protéines de poissons.

Cette action dépend à la fois de la température, du pH et du degré de salaison des poissons.

Nous avons préparé à Marseille du Nuoc-Mam avec les petits poissons de France dans une barrique de 120 litres. Les poissons utilisés sont à l'état frais. Le sel et les poissons y sont mis dans les mêmes proportions que dans la province de BINH THUAN. Le Nuoc-Mam retiré est de même qualité que celui de DAKAR riche en principes utiles et pauvre en bases volatiles.

Nous avons dosé l'azote sous ses différentes formes à la suite des divers prélèvements effectués au cours de l'hétérolyse, et consigné nos résultats dans le tableau I ci-dessous. Nous les avons par ailleurs traduits graphiquement (voir fig. 1, 2, 3, 4 et 5).

Le jus des poissons prélevé au cours de l'hétérolyse débarassé des sels par dialyse (dans un sac de collodion) ne révèle aucune trace de protéine. Les acides aminés du Nuoc-Mam se libèrent donc directement de la chair des poissons.

Les poissons sont mis à macérer le 6 Juillet 1952.

Tableau I. — Valeurs des différentes formes d'azote (en gr. par litre) observées en fonction du temps d'hétérolyse des poissons.

Prélèvement	Azote total	Azote formol	Azote ammoniacal	Azote aminé	triméthyl amine
10-7-52	7, —	1,70	0,86	0,84	0,0320
19-8-52	13,80	7, —	1,06	5,94	0,0300
19-9-52	14,28	7,40	1,38	6,02	0,0134
1-11-52	16,11	8,70	1,55	7,15	0,0095
14-1-53	16,96	9,85	1,90	7,95	0,0079
18-4-53	19,71	10,30	2,12	8,18	0,0078
3-7-53	22, —	11,90	2,40	9,50	0,0076

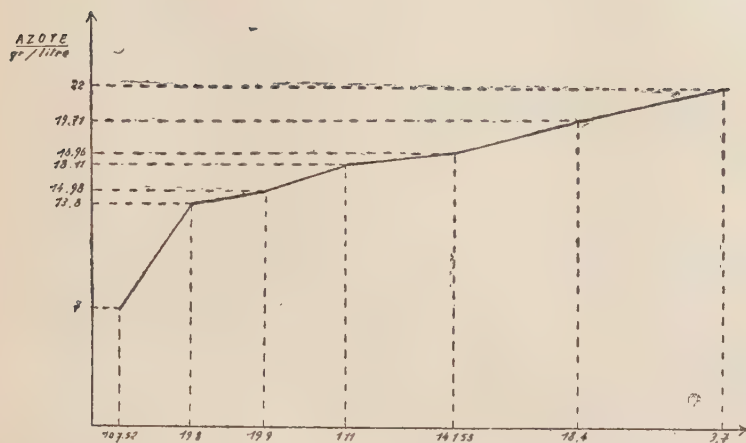


FIG. 1. — Courbe de l'azote total en fonction du temps.
La protéolyse diminue du 19.8 au 14.1.53 par suite de l'abaissement de la température. (hiver).

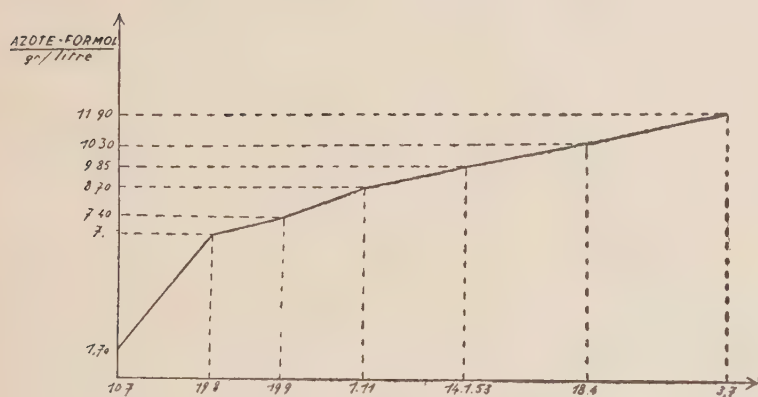


FIG. 2. — Courbe de l'azote-formol en fonction du temps.

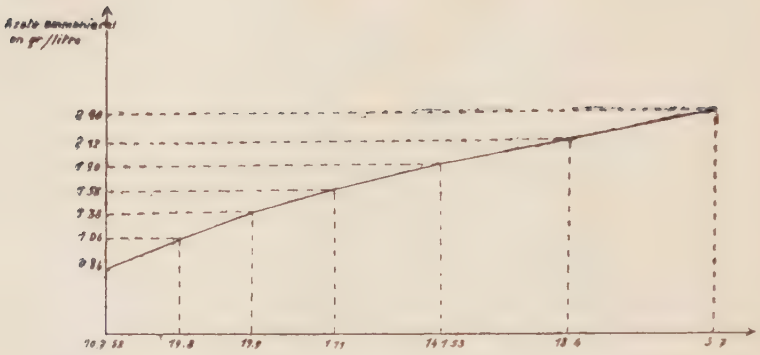


FIG. 3. — Courbe de l'azote ammoniacal en fonction du temps.

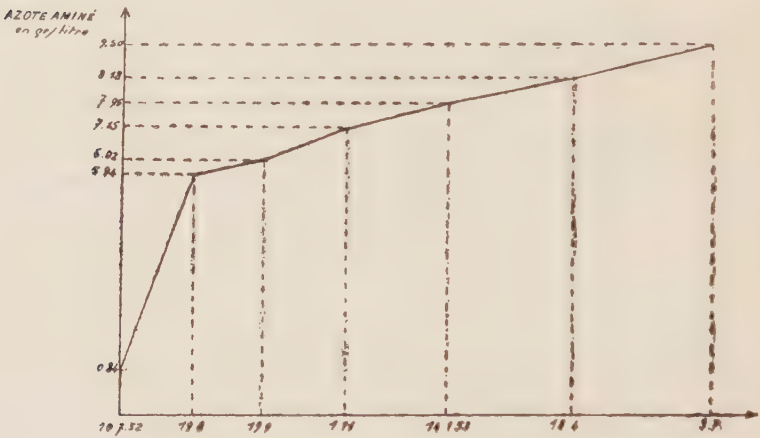


FIG. 4. — Courbe de l'azote-aminé en fonction du temps.

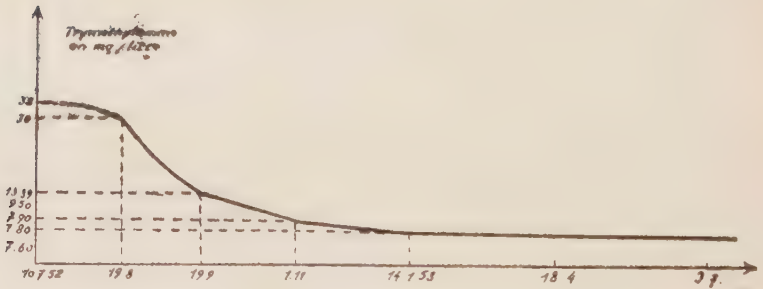


FIG. 5. — Courbe de la triméthylamine en mgr. par litre

La triméthylamine diminue au cours de l'hétérolyse.

Chimie du Nuoc-Mam.

Le Nuoc-Mam est un liquide très complexe. Il contient des produits de dégradation des protéines : des acides aminés, des acides organiques (GUILLERM) libres, des corps oétoniques (5), de l'ammoniaque et des amines biologiques.

Les divers échantillons de Nuoc-Mam que nous étudions sont d'une part de provenance de PHAN-THIET (Indochine) et d'autre part, de provenance de DAKAR (A.O.F.). Nous avons aussi préparé un Nuoc-Mam au laboratoire à Marseille selon les méthodes habituelles avec des poissons locaux.

I. — Étude du pH.

Le pH des différents échantillons de Nuoc-Mam est mesuré par la méthode potentiométrique.

Nuoc-Mam n°	Azote total en gr/litre	pH
1	25,6	6,35
2	13,8	5,90
3	22,6	6,10
4	22,6	6,38
5	15,5	5,40
6	16,95	6,35

Suivant A. COURTIN le pH=7 indique un produit en voie d'altération.

II. — Acidité.

a) Acidité libre.

L'acidité libre de titration dosée suivant A. COURTIN et calculée en acide acétique atteint 8 grammes par litre dans les bons produits. Elle est nulle dans les produits altérés (6).

b) Acidité volatile.

Elle est élevée dans les produits altérés et faible dans les produits de bonne qualité.

III. — Etude de l'azote.

1° Azote total:

La méthode que nous utilisons est la microméthode de Kjeldahl effectuée avec l'appareil de PARNAS et WAGNER.

2° Azote des bases volatiles.

Le dosage de l'azote des bases volatiles se fait suivant la méthode YOVANOVITCH (7). Le principe consiste à déplacer les bases volatiles des sels par le carbonate de lithium et à l'entraîner par la vapeur d'eau dans le vide obtenu par une trompe à eau, à la température de 40°-50° C. et à le retenir enfin par une solution titrée d'acide sulfurique.

L'avantage de cette méthode est d'éviter la décomposition des produits générateurs d'ammoniaque qui pourrait avoir lieu dans l'appareil de PARNAS et WAGNER où le déplacement d'ammoniaque s'effectue par de la vapeur d'eau à 100° C.

3° Azote au formol.

Le dosage s'effectue par la méthode de SORENSEN modifiée par EFFRONT (8). L'azote dosé est la somme de l'azote aminé et de l'azote des bases volatiles.

4° Azote aminé.

a) L'azote aminé est le résultat de la différence entre l'azote-aminé, l'azote-formol et l'azote des bases volatiles.

b) L'azote aminé peut être dosé directement par la méthode de VAN SLYKE (9).

Non seulement l'acide nitreux agit sur les groupements aminés des amino-acides, mais il agit aussi sur l'ammoniaque, les corps puriques et autres corps aminés tels que l'urée. Il décompose tout l'azote de l'ammoniaque en 1 h. 30 à 2 heures, l'azote des corps puriques en 2 heures à 5 heures et l'azote de l'urée en 1 heure à 8 heures.

Dans tous nos dosages par la méthode de VAN SLYKE, nous laissons l'acide azoteux agir sur les acides aminés pendant 20 minutes.

L'agitation de la chambre à réaction se fait mécaniquement à raison de 80 agitations par minute. Nos résultats sont exprimés en grammes par litre dans le tableau ci-dessous.

Nuoc-Mam n°	Azote total	Azote formol (A)	Azote ammoniacal (B)	Azote aminé (A) — (B)	Azote Van Slyke
1	25,60	13,50	6,50	7,00	11,00
2	13,80	6,70	4,00	2,70	4,00
3	22,60	15,00	5,44	9,56	12,36
4	22,60	15,30	3,12	12,18	12,24
5	15,50	10,87	2,99	7,88	7,50
6	16,95	9,85	1,90	7,95	7,86

IV. — Étude des acides aminés.

Le Nuoc-Mam est un produit biologique très riche en acides aminés. Certains auteurs ont déjà signalé la présence dans le Nuoc-Mam de leucine, d'alanine, de valine (10), du tryptophane, d'arginine, d'histidine, lysine et de tyrosine (11).

Les autres acides aminés dans le Nuoc-Mam n'ont pas été identifiés.

Etude qualitative.

La méthode la plus intéressante et la plus rapide pour étudier les acides aminés dans un liquide biologique est la chromatographie de partage sur papier. Cette méthode ne peut être appliquée directement sur le Nuoc-Mam dont la concentration en chlorures de sodium est très élevée (200 à 280 grammes par litre). Ce taux énorme de sel gêne considérablement la révélation des acides aminés par la ninhydrine (12). La partie supérieure du chromatogramme est confuse, tandis que dans la partie inférieure, le sel peut empêcher complètement le développement des taches de glycocolle, de thréonine, alanine et tyrosine.

Il est donc nécessaire d'éliminer le chlorure de sodium dans le Nuoc-Mam.

Au début, nous avons essayé la méthode de dessalage indiquée par P. BOULANGER et G. BISERTE (13) et appli-

quée au sérum sanguin et au liquide céphalo-rachidien. Le principe consiste à dissoudre les acides aminés dans l'acétone chlorhydrique qui précipite en même temps les protéines et les sels. Après évaporation de l'acétone, on procède à une délipidation par l'éther et le résidu est repris par un petit volume d'eau faiblement chlorhydrique. Cette méthode ne donne pas entièrement satisfaction. Nous remarquons que l'extraction des acides aminés dans un liquide biologique complexe fortement salé comme le Nuoc-Mam, par la méthode de P. BOULANGER et G. BISERTE demande beaucoup d'acétone chlorhydrique et nous ne sommes pas parvenu à une extraction satisfaisante. En outre, nous avons remarqué comme G. BISERTE et R. SCRIBAN que l'acétone chlorhydrique donne quelquefois des chromatogrammes présentant quelques anomalies sous la forme de taches allongées de Rf mal définies dans le système butanol acétique et que les deux auteurs considèrent comme des artéfacts (14).

Aussi avons-nous repris la méthode de dessalage préconisée par M. AUTRET et A. VIALARD-GOUDOU et appliquée au Nuoc-Mam (15). Ces auteurs ont remarqué que la présence d'une forte teneur en chlorure de sodium gêne considérablement le dosage des divers acides aminés en particulier celui de tyrosine par les méthodes chimiques habituelles.

Nous avons utilisé, au lieu d'une solution de 20 p. 100 d'acide chlorhydrique de densité 1,9 dans l'alcool à 94°-95° comme M. AUTRET et A. VIALARD-GOUDOU, une solution d'alcool chlorhydrique dont la formule est la suivante :

acide chlorhydrique 1,19 : 0,2 cm³.
alcool pur 99° - 100° : 100 cm³.

Notre solution présente l'avantage d'être moins riche en acide chlorhydrique qui pourrait, si concentré, provoquer l'hydrolyse des protéines ou peptides qui pourraient se rencontrer dans le Nuoc-Mam.

Voici la technique que nous adoptons : 5 cm³ de Nuoc-Mam sont évaporés à sec dans un cristalliseur plat dans une cloche à vide à la température du laboratoire. Le résidu sec est trituré et mis en contact pendant 20 minutes avec 5 cm³ d'alcool chlorhydrique. Nous transvasons ensuite le liquide dans un tube. Après centrifugation, nous décantons le liquide dans un petit ballon.

Nous procédons ensuite au lavage du résidu du cristalliseur ainsi que du tube à centrifuger trois fois avec 5 cm³ d'alcool chlorhydrique. Pour chaque lavage nous opérons comme précédemment, c'est-à-dire en triturant les cristaux

et en laissant macérer pendant 20 minutes dans l'alcool chlorhydrique. Le résidu au fond du tube à centrifuger doit être remué avant chaque centrifugation.

Tous les liquides décantés dans le ballon sont évaporés sous vide à sec. Nous ajoutons au résidu sec ainsi obtenu 5 cm³ d'alcool pur à 95° et nous évaporons de nouveau à sec. Cette opération est répétée trois fois. Nous ajoutons au résidu obtenu une petite quantité d'eau pour en faire une solution convenable destinée à la chromatographie. Auparavant, nous avons dosé l'azote total avant et après la technique de dessalage décrite ci-dessus. (Voir tableau ci-dessous). Nos résultats sont exprimés en mg.

Nuoc-Mam n°	1	2	3	4	5	6
Azote total de 0,5 cm ³ de Nuoc-Mam avant dessalage	12,80	6,90	11,30	11,30	7,75	8,95
Azote total de 0,5 cm ³ de Nuoc-Mam après dessalage	12,40	6,80	10,87	10,90	7,70	8,50

Le tableau d'analyse montre que tout l'azote est récupéré dans le liquide extractif.

Résultats Expérimentaux.

Nous avons fait une étude chromatographique comparative de divers échantillons de Nuoc-Mam dont nous disposons ainsi que de l'hydrolysate de sardine que nous avons préparé au laboratoire.

CHROMATOGRAPHIE.

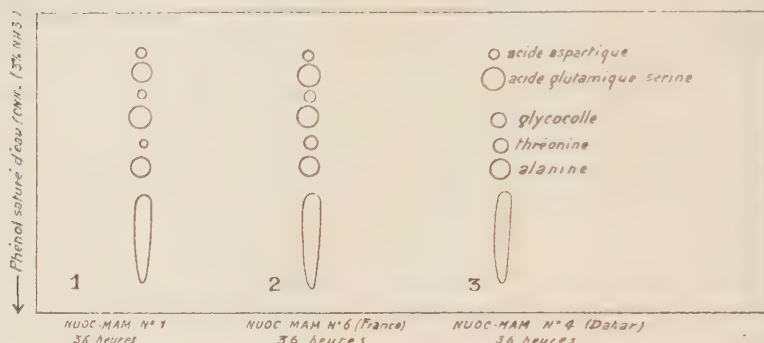
A. — REVELATION A LA NINHYDRINE.

1. — CHROMATOGRAPHIE EN UNE DIMENSION.

Tous nos chromatogrammes sont faits par méthode descendante, sur papier Wathman.

a) — avec le phénol saturé d'eau (CNK - 3 p. 100 d'NH₃).

La révélation des acides aminés se fait par une solution de ninhydrine à 0,2 p. 100 dans de l'alcool butylique.



CHROMATOGRAMME n° I

En 1 : on dépose une goutte de 5 mg d'une solution dessalée de 6,34 gr. d'azote par litre ; en 2 : on dépose une goutte de 5 mg d'une solution dessalée de 4,31 grammes d'azote par litre ; en 3 : on dépose une goutte de 5 mg d'une solution dessalée de 2,74 grammes d'azote par litre.

On trouve sur les chromatogrammes de divers Nuoc-Man :

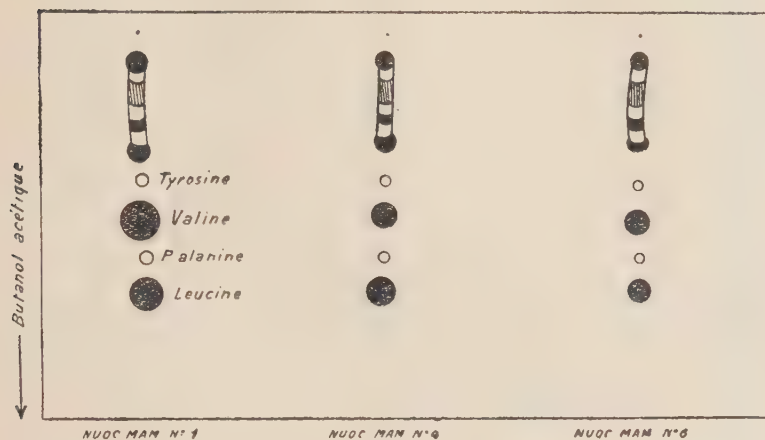
- 1° deux taches importantes qui correspondent à l'acide glutamique et à l'alanine ;
- 2° quatre taches de coloration moyenne qui correspondent à l'acide aspartique, la serine, le glycocolle et la thréonine. Le Nuoc-Mam de Dakar ne contient pas de serine ;
- 3° une tache inférieure allongée dont le Rf moyen est 0,80-0,82 qui correspond à un certain nombre d'acides qu'on n'arrive pas à séparer avec la chromatographie en une seule dimension.

b) — avec le butanol acétique.

On réalise un mélange de butanol, d'acide acétique et d'eau suivant les proportions :

butanol normal	40
acide acétique cristallisable	10
eau distillée	50

Le mélange est agité et abandonné au repos 24 heures. La couche aqueuse inférieure est utilisée pour saturer la cuve en butanol acétique. La couche supérieure formée de l'alcool butylique saturé d'eau est utilisée comme solvant pour la chromatographie.



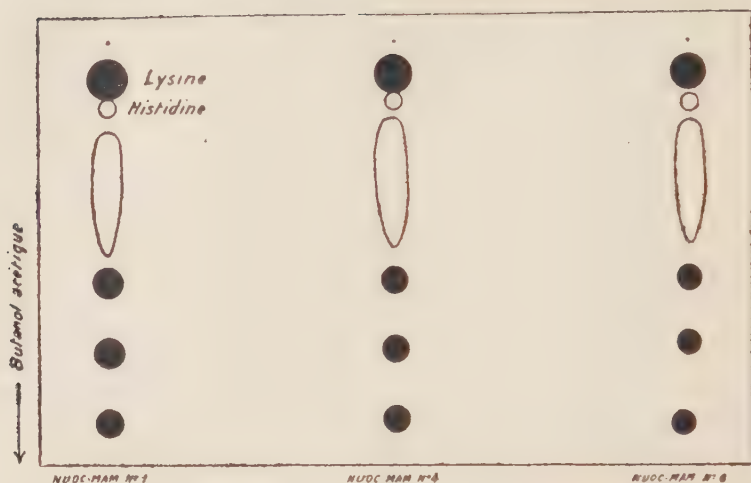
CHROMATOGRAMME n° 2

Papier Wathman n° 4 (12 heures).

Le chromatogramme II révélé à la ninhydrine permet d'identifier dans les échantillons de Nuoc-Mam d'Indochine, de Dakar et de France la présence de :

- 1° deux acides aminés en quantité importante : la valine et la leucine ;
- 2° deux autres acides aminés en quantité moindre : la tyrosine et la phénylalanine.

La tache allongée qui occupe la partie supérieure du chromatogramme différemment colorée dans ses diverses parties par la ninhydrine ne nous permet pas d'identifier les autres acides aminés.



CHROMATOGRAMME n° III

Papier Wathman n° 4 (96 heures).

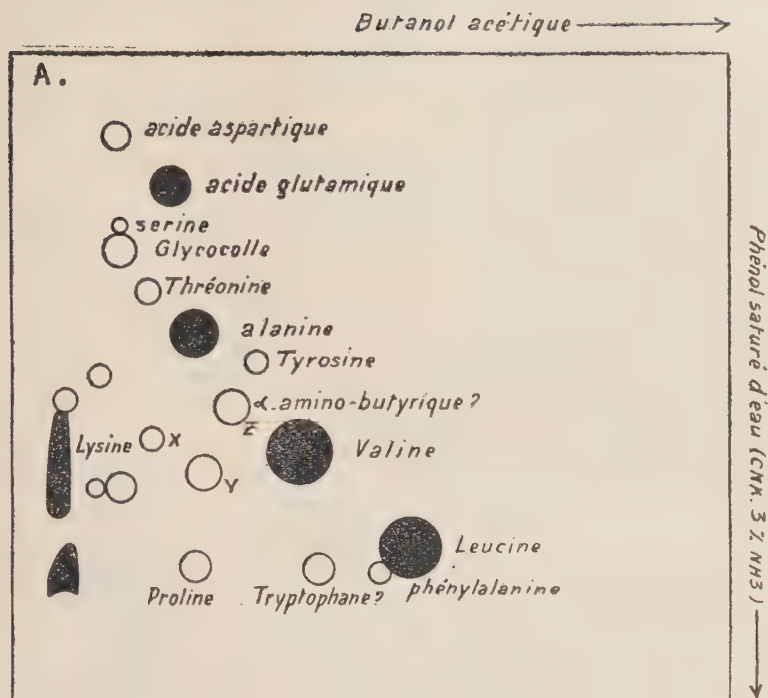
Le chromatogramme III ne permet de distinguer nettement que les taches de lysine de coloration violette très foncée, d'histidine de coloration brun sale, d'arginine de coloration violette et en quantité infime. Les autres taches sont formées par un mélange de divers acides aminés de Rf très voisins.

2. — CHROMATOGRAPHIE EN DEUX DIMENSIONS.

La première dimension est réalisée avec du butanol acétique.

La deuxième dimension est réalisée avec du phénol saturé d'eau (CNK — 3 p. 100 d' NH_3).

Nuoc-Mam n° 1.



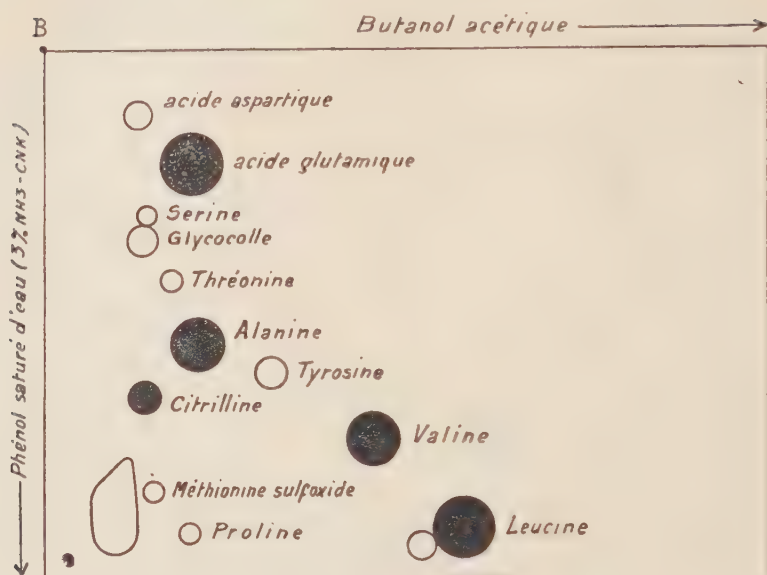
CHROMATOGRAMME n° IV

1^{re} dimension : butanol acétique (24 heures).

2^{me} dimension : phénol (NH₃ — 3%) (24 heures).

— En A : on dépose 3 gouttes de 5 mg. d'une solution de 6,34 gr. d'azote par litre. Chaque goutte déposée sur le papier doit être séchée soigneusement.

Nuoc-Mam n° 6 — Papier Wathman n° 1.



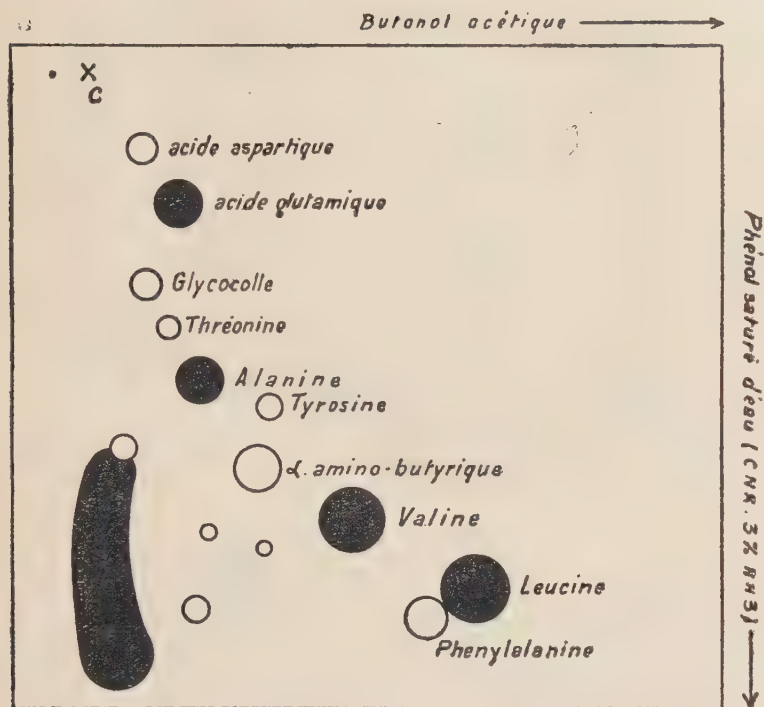
CHROMATOGRAMME n° V

1^{re} dimension : butanol acétique (24 heures).

2^{me} dimension : phénol (NH₃ — 3%) (24 heures).

— En B : 3 gouttes de 5 mg. d'une solution de 4,31 gr. d'azote par litre.

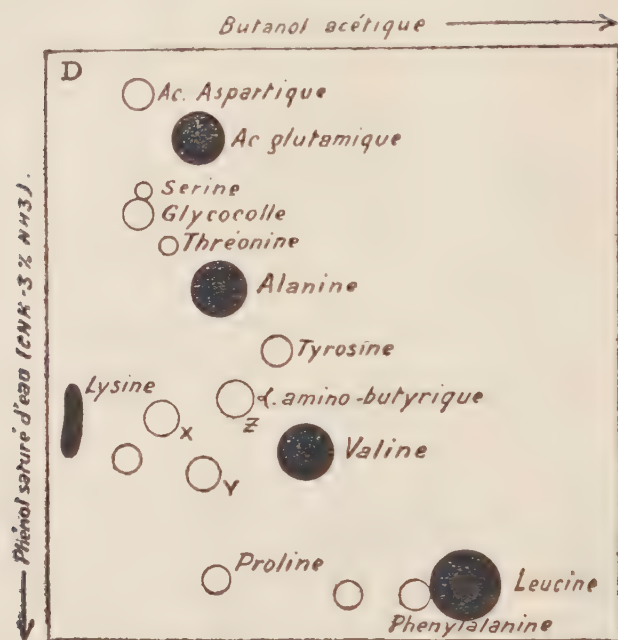
Nuoc-Mam n° 4 (Dakar) — Papier Wathman n° 1.



CHROMATOGRAMME n° VI

— En C : on dépose 3 gouttes de 5 mg. d'une solution de 2,74 gr. d'azote par litre.

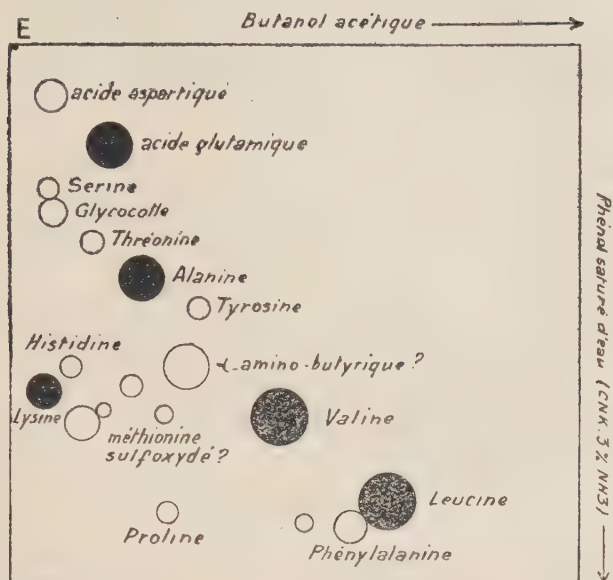
Nuoc-Mam n° 5 — Papier Wathman n° 1.



CHROMATOGRAMME n° VII

— En D : on dépose 3 gouttes de 5 mg. d'une solution de 2,65 gr. d'azote par litre.

Nuoc-Mam traité par O_2H_2



CHROMATOGRAMME n° VIII

— En E : on dépose 3 gouttes de 5 mgr. de Nuoc-Mam n° 5 traité par O_2H_2 .

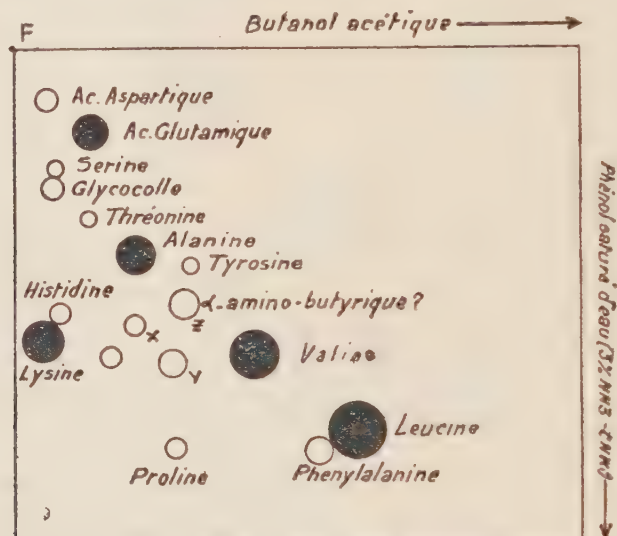
Dans ces chromatogrammes, on note la présence de 3 taches que nous n'avons pu caractériser et dont les Rf sont :

	Butanol acétique	Phénol (3 % d' NH_3)
tache X	0,73	0,30
tache Y	0,79	0,37
tache Z	0,65	0,42

La tache Z, si nous remarquons comme le fait A. POISON (16) que dans un chromatogramme à deux dimensions, les homologues de la même série se placent suivant la même courbe régulière, pourrait être identifiée à de l'acide α -amino-butyrique.

Les deux autres taches X et Y nous font penser à des peptides. Pour savoir si ce sont vraiment des peptides, nous faisons l'hydrolyse acide (acide chlorhydrique 5,5 N) du Nuoc-Mam pendant 20 heures à 110°, en tube scellé à l'étuve. Le chromatogramme obtenu avec l'hydrolysats de Nuoc-Mam dessalé présente toujours ces 2 taches.

Hydrolysats de Nuoc-Mam n° 5.



CHROMATOGRAMME n° IX

En outre, la comparaison des résultats d'analyse du Nuoc-Mam avant et après hydrolyse nous montre qu'il n'y a pas de peptides dans le Nuoc-Mam. Toutes les protéines sont dégradées en acides aminés (voir tableau ci-dessous).

Azote	Nuoc-Mam n° 5 avant hydrolyse (en gr. par litre)	Nuoc-Mam n° 5 après hydrolyse (en gr. par litre)
azote total	15,50	15,50
azote ammoniacal	2,99	3,90
azote formol	10,87	11,91
azote aminé	7,88	8,01

Hydrolysat de sardine.

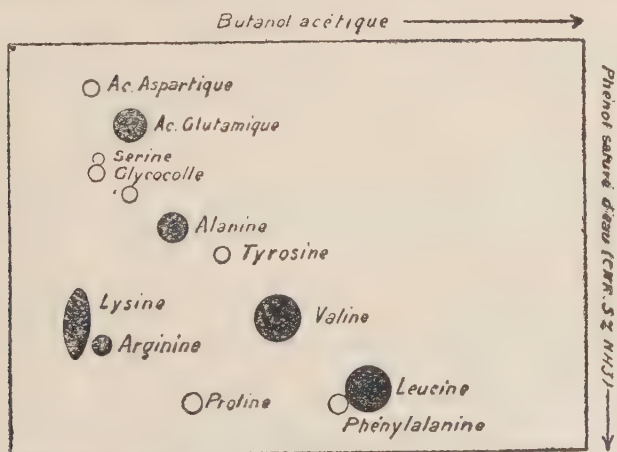
Ici, nous ne pouvons pas disposer des poissons d'Indochine. Nous faisons l'hydrolyse d'une sardine dont nous enlevons seulement les arêtes. L'enlèvement des arêtes a pour but d'éviter dans l'hydrolysat la présence de sels (phosphates, Carbonates de Ca.) pouvant gêner la chromatographie sur papier.

L'hydrolyse de la sardine se fait avec de l'acide chlorhydrique 6 N sous réfrigérant à reflux pendant 36 heures dans un bain d'huile. L'analyse donne les résultats ci-dessous.

Sardine	poids en grammes
poids brut	10,200
poids sec	3,000
azote total extrait	0,273
azote formol	0,214
azote ammoniacal	0,032
azote aminé	0,182

La chromatographie est représentée selon la fig. n° X.

Hydrolysat de sardine.



CHROMATOGRAMME n° X

Le chromatogramme n° X de l'hydrolysat de sardine, ainsi que le chromatogramme n° V du Nuoc-Mam n° 6 (France) ne présente pas la tache d'acide α -amino-butérique ni les taches X et Y;

B. — REVELATION AVEC DES REACTIFS PARTICULIERS.

1^o *Caractérisation de la proline.*

La proline sur le chromatogramme à une dimension se révèle selon ACHER, FROMAGEOT, et JUTISZ (17) par une solution d'isatine à 0,2 p. 100 dans le butanol contenant 4 p. 100 d'acide acétique.

Elle se caractérise par la tache bleue caractéristique.

2^o *Caractérisation de l'arginine.*

Le Nuoc-Mam donne une coloration rose très pâle avec la réaction de SAKAGUCHI.

L'arginine existe dans le Nuoc-Mam à l'état de trace non dosable.

L'urée que contient le Nuoc-Mam est en trop faible quantité pour pouvoir nuire à la réaction.

Nous avons essayé de caractériser l'arginine sur les chromatogrammes par la réaction de SAKAGUCHI selon la méthode de J. ROCHE, W. FELIX, V. ROBIN et NG VAN THOI (18). Cette méthode consiste à pulvériser successivement à la surface du papier soigneusement séché :

- une solution renfermant 0,2 cm³ de soude à 40 p. 100,
0,2 cm³ de solution alcoolique d' α naphtol.
0,2 cm³ de solution aqueuse d'urée à 40 p. 100.
40 cm³ de n-butanol.

— une solution d'hypobromite de sodium provenant de la dilution au 1/5^e de celle obtenue par l'addition de 0,9 cm³ de brome à 100 ml de soude à 10 p. 100.

L'application de cette technique nous a conduit à des résultats absolument négatifs en ce qui concerne les chromatogrammes effectués à partir des échantillons de Nuoc-Mam n^o 1, de Nuoc-Mam préalablement dessalé, de Nuoc-Mam provenant de DAKAR, ainsi que du produit de l'échantillon que nous avons nous-même préparé à Marseille. Par contre, un essai témoin effectué à partir d'une solution d'arginine pure nous a bien donné une réaction positive (spot coloré en rose correspondant à la réaction de SAKAGUCHI).

En outre, en comparant la tache d'arginine témoin du chromatogramme XI à celle du chromatogramme III, nous voyons que la réaction de l'arginine avec la ninhydrine est plus sensible que la réaction de SAKAGUCHI.

3^o Caractérisation du tryptophane.

Nous avons essayé de caractériser le tryptophane dans le Nuoc-Mam par de l'acide glyoxalique en milieu acide sulfurique concentré. Cependant celui-ci provoque un brunissement du Nuoc-Mam qui masque toute coloration.

Nous le caractérisons par la réaction de VOISENET utilisée par VIALARD-GOUDOU (19) qui donne une coloration violette très nette avec les différents Nuoc-Mam.

4^o Caractérisation de la méthionine.

La chromatographie se fait en une dimension avec comme solvant, le butanol en atmosphère ammoniacale.

La méthionine se révèle par la tache jaune avec l'iodo-platinate de potassium (20).

Les différents Nuoc-Mam contiennent ainsi comme acides aminés :

a) des acides aminés dicarboxyliques, acide aspartique, acide glutamique ;

b) des acides diaminés : lysine, histidine — l'arginine se trouve dans les différents échantillons de Nuoc-Mam à l'état de trace ;

c) des acides aminés neutres : serine, glycocolle, thréonine, alanine, acide α amino butyrique, valine, leucine, proline, phénylalanine, tyrosine et tryptophane.

L'échantillon de Nuoc-Mam de Dakar ne contient pas de serine.

L'échantillon de Nuoc-Mam n° 6 que nous fabriquons en France ne possède pas d'acide α amino butyrique comme l'hydrolysate acide de sardine.

Les échantillons de Nuoc-Mam d'Indochine présentent 2 taches inconnues sur les chromatogrammes à deux dimensions dont les Rf sont respectivement :

Phénol 3 p. 100 ammoniac Rf		(40 cl. butanol + 10 cl. acétique + 50 cl. eau) Rf
X	0,73	0,30
Y	0,79	0,37

Etude quantitative des acides aminés

DOSAGE DU TRYPTOPHANE.

Le tryptophane est un acide aminé indispensable. Il fait pratiquement défaut dans les protéines du riz et du maïs, aliments de base des populations indochinoises. Par contre les Nuoc-Mam en sont très riches. Le dosage du tryptophane a été fait par AUTRET et VIALARD-GOUDOU (19) selon la méthode de VOISENET. Les deux auteurs ont constaté dans leur dosage que la valeur en chiffres du tryptophane est toujours sensiblement le dixième de celle de l'azote aminé obtenu en soustrayant de l'azote titrable au formol la valeur de l'azote ammoniacal et par conséquent le rapport de l'azote du tryptophane à l'azote aminé est sensiblement constant et très peu différent de 1,40 p. 100.

DOSAGE DE LA TYROSINE.

Le dosage de la tyrosine a été fait par VIALARD-GOUDOU selon la réaction de MILLON (22).

L'auteur a constaté que dans les Nuoc-Mam normaux, la teneur en tyrosine du Nuoc-Mam est constante et ne dépend pas de l'origine du produit (Nuoc-Mam de poissons de mer ou d'eau douce).

Les chiffres obtenus pour la teneur en tyrosine dans les Nuoc-Mam varient entre 2,4 gr. et 1,78 gr. par litre. Cette constance en tyrosine permet dans une certaine mesure de déceler les fraudes dues au mouillage du Nuoc-Mam.

DOSAGE DES AUTRES ACIDES AMINES PAR CHROMATOGRAPHIE.

Les méthodes quantitatives peuvent se ranger en deux grands groupes :

- 1^o — détermination directe sur papier;
- 2^o — dosage après élution, des acides aminés par des réactifs particuliers.

1^o Détermination directe sur papier.

a) Mesure de la surface des taches au planimètre (23). On tient compte que la surface des taches sur papier est proportionnelle dans une certaine mesure au logarithme de leurs concentrations. On se rapporte à des échelles établies avec des mélanges-témoins d'acides aminés de concentration croissante.

b) Mesure de la surface des taches et de l'intensité de la coloration.

Deux techniques ont été préconisées :

— On compare visuellement la surface des taches et l'intensité de leur coloration avec une échelle témoin obtenue avec les mêmes acides aminés (24).

— Les surfaces des taches sont comparées au planimètre et leur densité optique au photomètre (25).

c) Méthode par rétention du cuivre (26). Le liquide à analyser est d'abord chromatographié dans la première dimension avec un solvant approprié. La deuxième dimension est réalisée comme solvant, de l'acétate de cuivre en solution dans le tétrahydrofuranne. Les taches seront révélées avec le réactif du cuivre (solution de diamide de l'acide di-thio-oxalique). On compare les entailles laissées par le solvant avec des courbes de références.

d) Dosage de l'azote par une microméthode utilisant les cellules de CONWAY (27). Après révélation à la ninhydrine, les taches sont découpées et on dose directement l'azote dans des rondelles de papier. Le blanc est déterminé sur des morceaux de papier vierge, de mêmes dimensions, découpés dans le même chromatogramme.

2^o Dosage après élution des acides aminés.

a) Elution, réaction avec la ninhydrine. L'acide aminé à doser est localisé sur le chromatogramme soit en lumière ultra-violette (28), soit en utilisant la ninhydrine à 0,05 p. 100 (29). Le papier est découpé à l'emplacement de l'acide aminé, on l'élue et on dose par colorimétrie avec de la ninhydrine (30).

b) Elution et réaction de POPE et STEVENS (31). Les substances éluées sont laissées à réagir avec une suspension de phosphate de cuivre à pH 9,3 et après filtration de l'excès du réactif, le complexe soluble acide aminé cuivre est dosé

iodométriquement ou colorimétriquement au di-éthylldithio-carbamate.

Le complexe acide aminé cuivre peut être dosé par polarographie (32).

c) Elusion et dosage de l'azote.

On élue l'acide aminé et on dose l'azote.

Dans tous nos dosages par chromatographie, nous ne comparons que les taches de même intensité de coloration avec des échelles témoins d'acides aminés. Les surfaces de ces taches sont mesurées au planimètre.

DOSAGE DE L'ACIDE GLUTAMIQUE, DE LA SERINE, DU THREONINE ET DE L'ANALINE.

Les échantillons de Nuoc-Mam à analyser sont chromatographiés dans une seule dimension avec du phénol saturé d'eau (CNK, 3 p. 100 d'ammoniac) et du papier Wachtman n° 1 pendant 72 heures.

Les acides aminés : acide aspartique, acide glutamique, serine, glycofolle, thréonine, alanine, se séparent nettement. L'acide aspartique dans les Nuoc-Mam dessalés présente toujours sur les chromatogrammes deux taches distinctes allongées qu'il est difficile de comparer à des taches témoins.

Les autres acides aminés se dosent facilement.

Nuoc-Mam n°	acide glu- tamique gr/lt	serine gr/lt	glycofolle gr/lt	thréonine gr/lt	alanine gr/lt
1	10,20		8,80	5,46	7,18
2			1,84	1,22	2,78
3	6,87		4,11	2,65	6,87
4	11,01	trace	5,80	3,08	6,99
5	5,10	0,90	2,11	2,07	5,10
6	8,90	3,50	5,00	5,85	6,67

Nous ne pouvons pas doser de la serine des Nuoc-Mam n° 1, n° 2 et n° 3, car les taches de serine, après révélation à la ninhydrine, ne présentent pas la même intensité de coloration avec les taches de serine témoins.

DOSAGE DE LA VALINE ET DE LA LEUCINE.

Les divers échantillons de Nuoc-Mam sont chromatographiés avec du butanol acétique dans une seule dimension pendant 36 heures.

Les taches de valine et de leucine se séparent nettement. Leurs surfaces mesurées au planimètre sont comparées aux taches témoins de même intensité.

Nuoc-Mam n°	Valine gr/lt	Leucyne gr/lt
1	7,35	10,00
2	3,30	5,12
3	6,83	6,00
4	8,11	9,12
5	5,07	8,99
6	entre 5,73 et 6,88	8,71

DOSAGE DE LA LYSINE.

La chromatographie se fait à une seule dimension avec du butanol acétique comme solvant pendant 96 heures. Le papier utilisé est du Wachtman n° 4. La lysine se sépare nettement des autres acides aminés.

Nuoc-Mam n°	Lysine gr/lt
1	10,08
2	entre 2,68 et 3,21
3	10,30
4	7,45
5	3,80
6	entre 7,38 et 8,43

Les aminés biologiques

TRIMETHYLAMINE.

Nous faisons le dosage de la triméthylamine dans le Nuoc-Mam en bloquant les amines primaires et secondaires par un excès de formol.

Le triméthylamine est entraîné par un courant d'air débarrassé des vapeurs d'acides et de bases volatiles pendant 5 heures dans une solution titrée d'acide sulfurique N/70.

L'appareil utilisé est le même que celui mis en œuvre dans la méthode de dosage de l'azote ammoniacal (YOVANO-VICTH (7)).

Nos résultats sont consignés dans le tableau ci-après :

Nuoc-Mam n°	Azote en gr/lt	Triméthylamine en mgr/lt
1	25,60	50
2	13,80	14
3	22,60	7
4	22,60	7

HISTAMINE.

On a pensé à la présence de l'histamine dans le Nuoc-Mam qui a déterminé la toxicité de ce produit. Nous avons retrouvé la présence de cette base biologique dans le Nuoc-Mam selon la méthode biologique habituelle (33).

Autres corps azotés

Il est à noter que le Nuoc-Mam ne contient pas de l'allantoïne (COUSIN et DINH) (34).

UREE.

L'urée dans le Nuoc-Mam est dosée suivant la méthode de THIVOLLE et SONTAG (35). Le principe du dosage consiste à précipiter dans le filtrat de déprotéinisation du Nuoc-Mam par le xanthydrol. Le précipité de dixanthylurée ainsi obtenu est oxydé à chaud par le réactif sulfo-chromique. L'excès de bichromate n'ayant pas réagi avec la xanthylurée est dosé par une solution titrée de ferrocyanure de potassium en présence du diphenyl-benzidine comme indicateur. Ce dernier corps est bleu en milieu oxydant (bichromate acide) et vire au vert jaune en présence du moindre excès de réducteur (ferrocyanure).

Nuoc-Mam n°	Azote total en gr/lit	Qualité d'urée exprimée en mg/lit
1	25,60	124
2	13,80	103,40
3	22,60	288,50
4	22,60	258,50
5	15,50	71,00
6	16,96	87,60

La quantité d'urée dans le Nuoc-Mam varie entre 70 mg et 300 mg. par litre.

INDOL ET CORPS INDOLOGENES.

La recherche de ces corps a été faite par VIALARD-GOUDOU (36) selon la technique de BERTHELOT (37).

Ils ont été dosés suivant la technique de CLOUGH (38) qui consiste en un entraînement par la vapeur d'eau suivi d'un dosage colorimétrique à l'aide du réactif d'EHRLICH (solution alcoolique à 20 p. 100 de paradiméthylaminobenzaldéhyde.

Origines des Nuoc-Mam	Caractères organoleptiques	Chlorure de sodium gr/lt	Azote total gr/lt	AZOTE (gr/lt)			Indol en mg/lt
				organique	aminé	N-NH ₃	
PHU-QUOC	normaux	259,70	28,50	24,50	7,70	4,30	0,124
»	»	274,90	19,60	16,30	7,30	3,30	0,240
»	»	202,40	18	14,10	6,10	3,90	néant
»	»	245,70	21	15,80	7,90	5,20	0,056
MUI-NE	»	275,00	21,40	17,40	7,40	4,00	0,264
»	»	266,00	18,20	14,00	6,40	4,20	0,032
»	»	286,60	13,10	7,70	3,40	5,40	0,140
»	»	276,10	11,40	7,40	3,20	4,00	0,144
»	»	261,00	12,00	7,30	3,10	4,70	0,120
»	troublé légèrement verdâtre	298,30	8,90	6,00	2,00	2,90	0,416
TRUNG-HOA	trouble	294,30	5,60	2,70	0,70	2,90	0,144
TANAN	normaux	269,10	8,40	2,60	0,80	5,80	0,152
LAGAN	»	280,80	9,40	5,30	2,30	4,10	0,128
GOCONG	»	288,90	11,20	6,60	2,60	4,60	0,064
LUONG-HIÊP	»	279,60	14,30	7,70	2,90	6,60	0,160
TANAN local	»	290,20	14,00	9,10	3,20	4,90	0,080
PHAN-THIET	»	284,30	15,00	10,40	4,60	4,60	0,208
LAGAN	»	237,50	18,00	13,70	5,70	5,70	0,072
HONG-HOA	trouble avec gaz	282	11,10	6,60	4,50	4,50	0,312

Les chiffres d'indol pourraient varier entre 6,2 et 125 γ en moyenne pour un Nuoc-Mam à teneur en azote total de 28 grammes par litre. Dans les cas du Nuoc-Mam offrant les caractères de la tourne, les chiffres d'indol sont entre 0,416 mg et 0,312 mg par litre.

PURINES (acide urique et bases puriques).

Les purines sont dosés selon la méthode de HAYCRAFT-DENIGES (39). Le principe consiste à précipiter les composés uriques et xanthiques par une quantité connue de nitrate d'argent en solution ammoniacale et magnésienne. L'excès de nitrate d'argent est dosé à l'aide d'une solution titrée de

cyanure de potassium en présence d'iode de potassium comme réactif indicateur. La quantité de nitrate d'argent nécessaire pour précipiter les composés puriques permet de calculer le poids d'acide urique correspondant.

Nuoc-Mam n°	Azote total gr/lit	Quantité d'acide urique (mg/lit)
1	25,60	2,52
2	13,80	3,57
3	22,60	2,73
4	22,60	3,36
5	15,50	3,57
6	16,96	4,40

CREATINE DANS LES NUOC-MAM.

La créatine dans les Nuoc-Mam a été dosée par NGUYEN VAN DINH selon la méthode de RIEGERT (41).

Le principe du dosage consiste à transformer la créatine par l'action de l'oxyde jaune de mercure en milieu alcalin en acide oxalique et en méthylguanidine. Ce dernier corps est dosé selon la réaction de SAKAGUCHI.

Teneur en créatinine dans le Nuoc-Mam du Tonkin selon NGUYEN VAN DINH

Nuoc-Mam n°	Azote total en gr/litre	Créatinine en mg/lit
1	12,76	275,89
2	11,43	292,66
3	15,17	382,75
4	21,72	593,82
5	12,14	525,97
6	19,46	542,17
7	4,96	408,93
8	12,44	377,03
9	18,21	588,07
10	15,82	492,14

ACIDE NICOTINIQUE:

Le dosage de l'acide nicotinique se fait selon la méthode de KODICEK (42).

Cette méthode utilise la réaction de KÖNIG (43) qui donne une coloration si on fait agir successivement du bromure de cyanogène et une amine aromatique sur l'acide nicotinique en solution.

La coloration varie suivant l'amine utilisé. Dans tous nos dosages nous utilisons la para-amino-phényl-sulfamide proposée par RAOUL et CREPY (44).

Nuoc-Mam n°	Acidenicotinique en gr/litre	Azote total en mg/lit
1	25,60	39
2	13,80	11,40
3	22,60	34,10
4	22,60	38,20
5	15,50	32,50
6	16,96	34,00

Les infiniments petits chimiques

BROME ET IODE.

Le dosage du brome et de l'iode a été fait par COUSIN et DINH (45) suivant la technique de GRONOVER et WOHN-LICH (46).

Nuoc-Mam n°	Azote total gr/lt	Chlorure de sodium gr/lt	Calcination avec potasse		Calcination avec oxyde de magnésium	
			Iode mg/lt	Brome mg/lt	Iode mg/lt	Brome mg/lt
1	25,02	270,44	3,32	64,94	5,08	68,80
2	24,64	268,52	3,66	66,20	5,92	88,75
3	24,80	265,66	2,80	83,33	7,62	97,50
4	1,57	260,00	4,32	114,90	13,49	112,77

ARSENIC.

Le dosage de l'arsenic dans le Nuoc-Mam a été fait par COUSIN et KHA selon la méthode de CRIBIER après minéralisation intégrale (47).

Voici les résultats d'analyse obtenus par les deux auteurs :

Origine du Nuoc-Mam	Arsenic en mg/lt
PHU-QUOC n° 1	0,07
» n° 2	1,00
» n° 3	1,50
TONKIN de mauvaise qualité	1,50

FER ET MAGNESIUM.

Voici les quantités dosées dans quelques échantillons de Nuoc-Mam exprimées en magnésie (MgO) et oxyde ferrique (48).

NUOC-MAM	Azote total en gr/litre	Magnésie en gr/litre	Oxyde ferrique en gr/litre
1 ^{re} qualité	15,85	2,208	0,0085
Qualité courante	12,10	2,310	0,011

PHOSPHORE.

Le phosphore varie entre 300 milligrammes par litre dans les bons produits et 45 mg. dans les produits altérés (48).

NUOC-MAM	Azote total en gr/litre	Anhydride phosphorique en gr/litre
1 ^{re} qualité	19,3	0,565
Qualité commerciale du Tonkin	6,9	0,266

CALCIUM.

Le dosage du calcium consiste à transformer le calcium en milieu acétique pH 5,5 en oxalate de calcium par action d'une solution saturée d'oxalate d'ammonium. Après isolement et lavage du précipité d'oxalate de calcium par une solution à 0,2 p. 100 d'ammoniaque, l'ion oxalique est dosé par manganimétrie, en milieu sulfurique à la température de 60°.

Voici nos résultats d'analyse exprimés en mg. de calcium par litre.

Nuoc-Mam n°	Azote total en gr/litre	Quantité de calcium exprimée en mg/lt
1	25,60	240
2	13,80	286
3	22,60	350
4 (Dakar)	22,60	524
5	15,50	280
6 (France)	61,95	290

Conclusions générales

Le Nuoc-Mam est pour certaines populations asiatiques plus qu'un condiment. C'est un véritable aliment dont la valeur nutritive mérite d'être précisée. Ainsi il résulte des recherches antérieures et des nôtres que le Nuoc-Mam apporte essentiellement une très importante quantité de métabolites protidiques, cet apport est particulièrement précieux lorsque l'alimentation est de nature trop exclusivement glucidique, comme c'est si souvent le cas dans certaines régions où le riz constitue la base essentielle de l'alimentation.

Par ailleurs, la préparation du Nuoc-Mam représente une industrie très importante qui se greffe sur celle des grandes pêches. Le Nuoc-Mam permet d'exploiter au maximum les produits de la mer en permettant le transport et la diffusion des protides extraits des poissons vers les régions les plus privées de ressources poissonnières.

Nous avons tenu à décrire d'une façon précise les procédés de préparation du Nuoc-Mam. Nous avons vu qu'ils sont le fruit d'une très vieille expérience et que tout empiriques qu'ils puissent paraître, leur mise en œuvre aboutit à l'extraction des protides du poisson avec un rendement maximum. Par ailleurs, il n'est pas sans intérêt de souligner avec quel soin jaloux, les fabricants s'appliquent à développer certaines qualités organoleptiques (bouquet) très recherchées par la clientèle.

La préparation du Nuoc-Mam est le résultat de réactions biologiques complexes que l'on peut désigner sous le nom d'hétérolyse de la chair des poissons.

Les phénomènes de protéolyse sont simultanés à des fermentations dues au développement de certaines bactéries anaérobies.

Les protéolyses sont à la base de l'extraction des matières protidiques sous une forme soluble.

C'est aux fermentations que l'on doit le bouquet recherché du Nuoc-Mam.

Mais nous devons souligner combien il est délicat de régler l'évolution de ces deux phénomènes principaux de façon à obtenir, d'une part un bon rendement de la protéolyse et d'autre part, d'éviter que l'action microbienne conduise à de dangereuses putréfactions. Il est remarquable de constater comment, avec un très large coefficient de sécurité, les procédés indigènes permettent d'éviter ces écueils que nous venons de signaler. Il n'en demeure pas moins qu'il y avait un très grand intérêt à préciser par des recherches objectives l'influence des différents facteurs sur la préparation du Nuoc-Mam.

Nous avons, avec bien d'autres, poursuivi de telles recherches dont nous pouvons tirer un enseignement des plus utiles.

Voici les principales conclusions auxquelles nous a conduit l'étude de l'évolution de l'hétérolyse des poissons. Nous vous rappelons que nous avons réalisé à l'échelle semi-industrielle la préparation du Nuoc-Mam au laboratoire, à partir des poissons pêchés dans la Méditerranée.

La protéolyse a été suivie dans le temps par des dosages de l'azote total extractif, l'azote formol titrable, l'azote ammoniacal, l'azote aminé et une base aminée volatile typique, la triméthylamine.

Ceci nous a permis de montrer que la protéolyse se manifeste de façon très active pendant les deux premiers mois. Elle se poursuit ensuite beaucoup plus lentement tandis que des produits résultant des actions bactériennes apparaissent en quantité croissante. Il y a lieu de signaler l'augmentation constante de l'azote ammoniacal: la triméthylamine, particulièrement abondante pendant le premier mois, diminue par la suite progressivement. L'urée, particulièrement abondante chez les poissons, diminue très rapidement et il n'en reste plus que des traces (70 à 300 mg. par litre) dans le Nuoc-Mam terminé. Les bases puriques et la créatinine ne présentent pas des variations dignes d'intérêt. Un acide aminé particulier, l'arginine, disparaît totalement au cours de la préparation du Nuoc-Mam. Il y a lieu de signaler également, que selon les lieux de préparation, la sérine peut disparaître au cours de l'hétérolyse. Tel est le cas des échantillons originaires de Dakar et de celui préparé par nos soins.

Nous avons consacré une part très importante de nos recherches à la détermination de la composition en acides aminés des différents échantillons de Nuoc-Mam. L'étude de l'hétérolyse nous a d'abord montré que les protéines de la chair de poisson sont rapidement et intégralement transformées en acides aminés. Ceux-ci ont été caractérisés par

l'application de la chromatographie sur papier. Nous devons signaler que cette méthode ne peut pas être mise en œuvre sur le Nuoc-Mam et il nous est apparu indispensable, pour obtenir des résultats corrects, d'éliminer l'importante proportion de chlorure de sodium qui rend la chromatographie incorrecte, sinon impossible. La technique de dessalage doit donc être nécessairement mise en œuvre pour l'application des méthodes de chromatographie.

Nous avons ainsi caractérisé avec certitude dans le Nuoc-Mam dessalé la présence des acides aminés précisés ci-dessous. Parmi les acides aminés non indispensables, nous avons identifié : le glycocole, l'alanine, la tyrosine, l'acide aspartique, l'acide glutamique, la proline. Par contre, nous n'apportons aucune précision sur l'absence ou la présence de cystéine. Et nous avons déjà signalé que la sérine peut faire défaut dans certains échantillons de Nuoc-Mam.

Par ailleurs, en ce qui concerne les acides aminés indispensables, nous mettons en évidence la présence de lysine, histidine, phénylalanine, leucine et isoleucine, thréonine, méthionine, valine. Nous confirmons la présence du tryptophane dont la dégradation nous a apparu insignifiante du fait qu'au cours de l'hétérolyse nous n'avons pas observé une production notable de dérivés indoliques. Par contre, nous devons signaler la disparition quasi totale de l'arginine. De plus, nous n'avons pas constaté une augmentation d'ornithine.

Ces recherches qualitatives ont été complétées par les dosages chimiques d'un certain nombre d'acides aminés dont nous avons rapporté les résultats dans notre thèse. De ces résultats, nous retiendrons surtout que le Nuoc-Mam est particulièrement riche en deux acides aminés indispensables très importants : la thréonine et la lysine.

Il ressort essentiellement de nos recherches sur la composition en acides aminés que, exception faite de l'arginine, le Nuoc-Mam présente une source très importante de l'ensemble des acides aminés indispensables. Ainsi s'explique que le Nuoc-Mam joue un rôle que l'on peut qualifier de providentiel pour compléter la ration alimentaire de la plus grande partie de certaines populations asiatiques, en acides aminés indispensables à la croissance (lysine, thréonine, tryptophane) et au maintien de l'équilibre azoté protidique. Ces considérations suffisent à établir la très grande importance du rôle joué par le Nuoc-Mam dans l'alimentation. Dès lors, il apparaît que la préparation et la composition de cette denrée doit faire l'objet du contrôle le plus sévère. C'est pourquoi nous avons cru utile, dans notre travail, d'exposer la réglementation qui régit l'industrie et le commerce du

Nuoc-Mam. En outre, nous ne nous sommes pas limité à un simple exposé des méthodes officielles utilisées à cet effet, mais nous les avons appliquées à divers échantillons, et à cette occasion, nous avons formulé quelques suggestions quant au perfectionnement que l'on pourrait apporter à l'ensemble de ces techniques et à l'interprétation de leurs résultats.

Nous avons vu tout l'intérêt que présente la détermination des acides aminés. Le dosage de l'azote total demeure l'essai fondamental des analyses du Nuoc-Mam. A notre avis, une teneur en azote total inférieure à 15 gr. par litre devrait faire interdire la vente du produit. Un taux élevé de chlorure de sodium est seul de nature à assurer la conservation du Nuoc-Mam. Ce taux doit être supérieur ou égal à 280 gr. par litre. Notons cependant que les produits particulièrement riches en azote, c'est-à-dire ceux contenant 20 gr. par litre et au-dessus, se conservent d'une façon parfaite même si la teneur en chlorure de sodium n'atteint que 250 grammes.

Enfin, il y a lieu d'insister sur un point important, qui est celui relatif à la notion de pH. Un produit de bonne qualité doit présenter une réaction correspondant à un pH voisin de 6. L'observation d'un pH supérieur ou égal à 7 doit être considérée comme l'indice d'un produit en voie d'altération ou bien d'un produit résultant vraisemblablement de la récupération du Nuoc-Mam ayant subi une première putréfaction. Dans ce dernier cas, d'ailleurs, il est fréquent de noter ou une élévation du taux du calcium total, ou une augmentation de l'azote ammoniacal. Ainsi la détermination de l'azote ammoniacal apparaît également comme très intéressante ; cette fraction azotée ne doit pas dépasser la proportion de 50 p. 100 de l'azote formol titrable. Comme nous l'avons vu, les valeurs de l'azote formol titrable et de l'azote aminé reflètent très fidèlement le degré de protéolyse.

Avec l'ensemble de ces données, il nous paraît intéressant de considérer les teneurs en calcium, phosphore, magnésium, fer, iode et brome.

La recherche et le dosage de l'arsenic revêtent ici l'intérêt qu'ils présentent en général en chimie alimentaire afin d'éviter les intoxications accidentelles.

Les recherches portant sur des substances de haute activité biologique n'existant qu'à l'état de trace, n'ont pas encore été l'objet de travaux importants. Nous avons confirmé la présence de l'histamine dans le Nuoc-Mam. En outre, nous avons mis en évidence la présence de la vitamine P.P. (acide nicotinique) : le Nuoc-Mam peut apporter des doses voisines de 40 mg. d'acide nicotinique par litre permettant de couvrir les besoins minimums en cette vitamine.

En résumé, nous avons présenté au cours de notre travail une mise au point aussi complète que possible sur la préparation du Nuoc-Mam, sur sa composition chimique, sur les essais bromatologiques.

Nous avons discuté de la valeur alimentaire de cette denrée et, à cet égard, de son *extrême importance* pour le peuple Vietnamien.

L'ensemble de données que nous avons recueillies offre au lecteur une documentation générale d'où ressort à l'heure actuelle, le caractère encore empirique et artisanal d'une industrie dont nous avons signalé la très grande importance au point de vue diététique et financier.

Nous avons cru faire œuvre utile en montrant que derrière de telles méthodes de fabrication se cachent des mécanismes biochimiques précis. Dès lors, il nous reste à souhaiter que ces notions ainsi acquises se vulgarisent pour leur application rationnelle. Telle est la voie qui doit permettre le passage d'une industrie artisanale à une industrie moderne mettant en œuvre, d'une façon systématique, les réactions biochimiques (protéolyse) et les actions microbiologiques que les recherches scientifiques permettent chaque jour de connaître avec plus de détails. Nous serions heureux d'avoir pu contribuer par notre modeste travail à engager les producteurs Vietnamiens dans une telle direction.

Lu, le Président du Jury :

Professeur C. DUMAZERT.

Vu et approuvé :

Pour le Doyen, l'Assesseur :

Professeur J. DELPHAUT.

Vu et permis d'imprimer :

Le 1^{er} juin 1954

Le Recteur : BLACHE.

BIBLIOGRAPHIE

1. A. COURTIN. — Revue Vétérinaire militaire, 1951, *VI*, n° 2, 173-184.
2. ROSE. — Etudes sur le Nuoc-Mam (Annales de Médecine et de Pharmacie coloniale, 1924-1925, 23, 6.
3. GUILLERM et BOEZ. — Le facteur microbien dans la fabrication de la saumure indochinoise (C.R. Ac. Sc., 1930, 190).
4. Méthodes officielles d'analyse du Nuoc-Mam (Annales des fraudes et falsifications, 1933, 305.
5. DANG VU KHA. — Revue Médicale Française d'E.O., 1941, 19, 377.
6. A. COURTIN. — Revue Vétérinaire militaire, 1951, *VI*, n° 2, 173-184.
A. VIALARD-GOUDOU. — Revue Médicale Française d'E.O., 1941, 8, 1061-71.
7. YOVANOVITCH. — Bulletin de la Société de Chimie Biologique, 1925, 309.
8. EFFRONT. — Annales des Falsifications et des Fraudes, 1933, 26, 305-309.
9. VAN SLYKE. — Manuel d'analyse chimique volumétrique, par A. MATHIEU, 465-473.
10. GUILLERM. — Le Nuoc-Mam et l'industrie saumurière en Indochine (Arch. des Instituts Pasteur d'Indochine, 1928, 7, 22).
11. M. AUTRET et A. VIALARD-GOUDOU. — Revue Médicale Française d'E.O., 1940, 4-5, 198.
12. R. G. WESTALL. — Biochem. J., 1948, 42, 249.

13. P. BOULANGER et G. BISERTE. — Bulletin de la Société de Chimie Biol., 1949, 3-4, 696.
14. G. BISERTE et SCRIBAN R. — Bulletin de la Société de Chimie Biol., 1950, 961.
15. M. AUTRET et A. VIALARD-GOUDOU. — Revue Médicale Française d'E.O., 1940, n° 4-5, 198.
16. A. POLSON. — Bioch. Bioph. Acta., 1949, 3, 205.
17. ACHER R., FROMAGEOT Cl., JUTISZ M. — Bioch. Bioph. Acta., 1950, 5, 81.
18. J. ROCHE, W. FELIX, V. ROBIN et NG VAN THOAI. — C.R. Acad. Sc., 1951, 233, 688.
19. A. VIALARD-GOUDOU. — Le tryptophane dans le Nuoc-Mam (Revue Médicale Française d'E.O., 1939, 1031).
20. R. CONSDEN, A.H. GORDON, MARTIN A.T.P. — Bioch. J., 1946, 40, 33.
21. W.F. DONATH. — L'alimentation indigène aux Indes Néerlandaises, XI^{me} Congrès scientifique international de l'alimentation, Paris, 1937. Rapports 3^{me} Section, 45-62.
22. A. VIALARD-GOUDOU. — Revue Médicale Française d'E.O., 1942, 20, n° 6, 859.
23. R.B. FISCHER, D.S. PARSONS et G.A. MORRISON. — Nature, 1948, 161, 764.
24. A. POLSON. — Biochim-Biophys. Acta., 1948, 2, 578.
25. R.J. BLOCK et D. BOLLING. — The Amino acid composition of protéins and foods Ed. Charles C. Thomas, Springfield, 1951.
26. T. WIELAND et E. FISCHER. — Naturwiss., 1944, 35, 29 ; Angew. Chem., 1948, 60, 313.
T. WIELAND et L. WIRTH. — Chem. Ber., 1949, 82, 468.
27. C. KLATZKIN. — Nature, 1952, 169, 422.
28. L. FOWDEN. — Biochem. J., 1951, 48, 327.
A. PEREIRA et J.A. SERRA. — Science, 1951, 113, 387.

29. L. NAPHTALIN. — *Nature*, 1948, 161, 763.
R. A. BOISSONNAS. — *Helv. Chim. Acta.*, 1950, 33,
1966-1972 et 1975.
A. J. LANDUA et J. AWAPARV. — *Sciences*, 1949, 109,
385.
30. R. O. ATKINSON, R. G. STUART et R. E. STUCKEY.
— *Analyst.*, 1950, 75, 447.
31. A. J. WOIWOD. — *Biochem. J.*, 1949, 45, 412.
32. A. J. P. MARTIN et R. MITTELMANN. — *Biochem. J.*,
1948, 43, 353.
33. Mise en évidence et dosage biologique de l'histamine dans
le Nuoc-Mam (*Revue Médicale Française d'E.O.*,
1944, n° 4, 382).
34. COUSIN et DINH. — *Revue Médicale Française d'E.O.*,
1941, n° 8, 986.
35. L. THIVOLLE et G. SONNTAG. — *Guide des travaux
pratiques de chimie biologique*, par A. ROCHE et
C. DUMAZERT. Edition M. Declume, Lons-le-
Saunier, 1942, 36.
36. A. VIALARD-GOUDOU. — *Revue Médicale Française
d'E.O.*, 1942, 6.
37. D. BERTHELOT. — *Ann. Inst. Pasteur*, 1914, 28, 839.
38. R. W. CLOUGH, E. O. SHOSTROM et E. D. CLARD. —
1925, *Univ. Washington, Publications in fisheries*,
101-108.
39. HAYCRAFT-DENIGES. — *Fiches techniques du Prof.
FLEURY*. Edit. Vega, 1949, n° 7.
40. NG VAN DINH. — *Revue Médicale Française d'E.O.*,
1941, n° 8, 981.
41. RIEGERT. — *C.R. Société Biol.*, 1939, 25, 535.
42. KODICEK. — *Thèse Pharmacie René Fournier*, 1950,
50-54.
43. KONIG. — *Prakt. Chem.*, 1904, 69, 105.
44. Y. RAOUL et O. CREPY. — *Bull. Soc. Chim. Biol.*,
1941, 23, 362.

45. COUSIN et DINH. — Revue Médicale Française d'E.O., 1944, n° 4, 408.
46. A. GRONOVER et E. WOHNLICH. — Annales des falsifications et des fraudes, 1931, 608.
47. COUSIN et KHA. — Revue Médicale Française d'E.O., 1944, n° 4, 413.
48. A. COURTIN. — Revue Vétérinaire militaire, 1951, *VI*, n° 2, 173-184.

TABLE DES MATIÈRES

Introduction	13
Les grandes pêches en Indochine	15
Fabrication du Nuoc-Mam en Indochine	17
Fabrication du Nuoc-Mam en A.O.F.	22
Récupération de l'azote du Nuoc-Mam putride par les procédés empiriques	24
Influence du milieu sur l'activité des agents de la formation du Nuoc-Mam	25
Méthodes permettant l'obtention rapide du Nuoc-Mam	27
Méthodes officielles d'analyse, publiées d'après le décret du 26 avril 1933	29
Réglementation du Nuoc-Mam	34
Hétérolyse des poissons	36
Chimie du Nuoc-Mam	39
Etude quantitative des acides aminés.	56
Les amines biologiques.	60
Autres corps azotés.	61
Les infiniment petits chimiques	65
Conclusions générales	67
Bibliographie	73

AVIGNON. — MAISON AUBANEL PERE

N° 14.0024 - Juin 1954 - I. 2146

Dépôt légal 2^e trimestre 1954 E. 283

